UNIVERSITÉ DE PARIS - FACULTÉ DE PHARMACIE

THÈSE

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 30 Novembre 1962

par

Elsa SOBRIN

ETUDE DE L'ABSORPTION PERCUTANEE CHEZ LE RAT D'UN CERTAIN NOMBRE D'HUILES ANIMALES ET VEGETALES AINSI QUE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS EN DERIVANT

MEMBRES DU JURY :

Monsieur le Doyen VALETTE
Mademoiselle le Professeur FRANCOIS
Monsieur le Professeur CAVIER
Monsieur le Professeur ROSSIGNOL

DACTYLO-SORBONNE
8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI^e^
1962

UNIVERSITÉ DE PARIS - FACULTÉ DE PHARMACIE

THÈSE

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 30 Novembre 1962

par

Elsa SOBRIN

ETUDE DE L'ABSORPTION PERCUTANEE CHEZ LE RAT D'UN CERTAIN NOMBRE D'HUILES ANIMALES ET VEGETALES AINSI QUE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS EN DERIVANT

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

MEMBRES DU JURY :

Monsieur le Doyen VALETTE
Mademoiselle le Professeur FRANCOIS
Monsieur le Professeur CAVIER
Monsieur le Professeur ROSSIGNOL

DACTYLO-SORBONNE
8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI•
1962

PERSONNEL
DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. G. VALETTE - Doyen
M.M. JANOT - Assesseur
L. RODINEAU - Secrétaire général
L. JEANDEL - Secrétaire général adjoint
Mme S. CERTAIN - Secrétaire
Mme M.L. ESPINASSE - Secrétaire
M. G. FROISSART - Secrétaire

DOYEN HONORAIRE

M. R. FABRE Membre de l'Institut

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. M. DELEPINE Membre de l'Institut
L. LAUNOY
P. FLEURY
M. MASCRE
M. PICON
C. BEDEL
R. FABRE Membre de l'Institut

PROFESSEURS

MM. M.M. JANOT	Pharmacie galénique (T.)
G. VALETTE	Pharmacodynamie (T.)
R. PARIS	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T.)
M. GUILLOT	Physique (T.)
J. GAUTIER	Chimie organique (T.)
Mlle S. LAMBIN	Microbiologie (T.)
MM. Y. RAOUL	Physiologie (T.)
J. COURTOIS	Chimie biologique (T.)
L. DOMANGE	Chimie minérale (T.)
P. CRETE	Botanique (T.)
R. TRUHAUT	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.)
A. MORETTE	Hydrologie (T.)

MM.	R. CAVIER	Parasitologie (T.)
	A. QUEVAUVILLER	Hygiène et Education sanitaire (T.)
	R. MOREAU	Pharmacie chimique (T.)
	J. GUY	Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T.P.)
	A. GERMAN	Virologie et Sérologie (T.P.)
	M. PIETTE	Biologie sanguine (T.P.)
	P. MALANGEAU	Chimie analytique (T.)
	M. GIRARD	Chimie appliquée à l'expertise (T.)
	G. DILLEMANN	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T.)
	G. DEYSSON	Cytologie végétale (T.P.)
	J. FLAHAUT	Mineralogie (T.P.)
	C. BOUDENE	Professeur sans chaire
	A. Le HIR	Professeur sans chaire
	J. RENAULT	Professeur sans chaire

MAITRES DE CONFERENCES

MM.	Y. COHEN	Sciences naturelles
	P. LARUELLE	Physique
	G. Le MOAN	Toxicologie
	P. ROSSIGNOL	Pharmacodynamie
	H. RENAULT	Pharmacie chimique
	C. PAOLETTI	Sciences appliquées
	A. MANGEOT	Chimie analytique
	P. DELAVEAU	Matière médicale
	P. REYNAUD	Sciences physico-chimiques
	J. POISSON	Sciences naturelles
	A. DESVIGNES	Microbiologie
	F. PERCHERON	Biochimie
	J. SAVEL	Sciences naturelles
	J. BORY	Sciences naturelles

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	P. BINET	Parasitologie
	P. GESTEAU	Physique biologique
	J. GOUNELLE	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section biologie)
	J. HARIPSE	Chimie générale et pharmaceutique
	J. HENRY	Chimie (1e année)
Mme	J. HUBERT	Microbiologie
MM.	R. LELUC	Microbiologie
	M. LEMONNIER	Chimie analytique (2e et 3e années)
Mlle	S. LONGUEVALLE	Service des examens de Chimie
MM.	F. PELLERIN	Chimie analytique (2e et 3e années)
	R. PERLES (F. Fonc.)	Chimie biologique
	J. PESTIS (F. Fonc.)	Biologie animale

MM. R. POULLAIN	Hématologie
J. RIVET (F. Fonc.)	Physique
Mme M. ROBERT	Sérologie
Mlles A. ROLLEN	Biologie végétale
L. SEGUIN (F.Fonc.)	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (Section physico-chimie)
Mme M. SEILLER (F.Fonc.)	Pharmacie galénique industrielle
M. J. YONGER (F.Fonc.)	Chimie analytique (lère année)

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

M. A. CAVE	Chef de travaux de pharmaco-technie galénique
Mlle H. MORIN	Chef de travaux de pharmaco-dynamie
M. N ..	Chef de travaux de pharmaco-technie chimique

BIBLIOTHEQUE

Mlle Y. RUYSSEN	Conservateur, chargée de la Direction
Mlle LAVAUD	Conservateur
Mmes DESGRIPPES	Bibliothécaire
KREHMER	Bibliothécaire

-:-

A mes Parents,
mes Soeurs et Frère

A notre Maître et Président de Thèse,

Monsieur le Doyen G. VALETTE,

Doyen de la Faculté de Pharmacie,
Officier de la Légion d'Honneur,
Membre de l'Académie Nationale de Médecine,

Qui nous a fait l'honneur de nous accepter dans son laboratoire et nous a accueillie toujours avec la plus grande bienveillance, nous guidant sans cesse, et dont les précieux conseils ont permis à ce travail d'aboutir heureusement

En témoignage de notre profonde gratitude et de notre respectueuse admiration.

A Mademoiselle le Professeur M.T. FRANCOIS,

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy,

Qui nous a reçue avec tant de sympathie à Nancy, nous offrant son laboratoire, nous aidant de tout savoir et s'occupant aussi de notre confort

Nous le prions de trouver ici toute notre affectueuse reconnaissance et notre plus fidèle souvenir

A Monsieur le Professeur CAVIER,

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,

Qui nous a fait l'honneur de juger ce travail

Remerciements trés déférents.

A Monsieur le Professeur ROSSIGNOL,

Qui n'a cessé de nous prodiguer encouragements et gentillesses pendant ces années de séjour au laboratoire et a bien voulu accepter de juger ce travail.

Témoignage de sincère gratitude.

ETUDE DE L'ABSORPTION PERCUTANEE CHEZ LE RAT D'UN CERTAIN NOMBRE D'HUILES ANIMALES ET VEGETALES AINSI QUE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS EN DERIVANT

-:-:-:-:-

INTRODUCTION

-:-

L'absorption des médicaments à travers la peau a de tout temps suscité de l'intérêt en thérapeutique et, depuis près d'un siècle, cette question a fait le sujet d'expériences nombreuses tant sur l'homme que chez les animaux. Tour à tour, les méthodes d'analyses chimique, histologique et pharmacodynamique ont été appliquées à l'étude qualitative et quantitative de la pénétration à travers la peau intacte d'un grand nombre de substances liquides ou gazeuses et de produits solides dissous dans des véhicules appropriés. On s'est tres rapidement aperçu que la nature du véhicule exerce la plus haute importance sur la rapidité et l'intensité de la penétration cutanee du principe actif qui s'y trouve incorporé.

Jadis, les médicaments destinés à être appliqués sur la peau et à exercer une action en profondeur au lieu d'application ou même sur l'organisme en général étaient constitués par des emplâtres, des pommades ou des huiles composées, donc à base de véhicules gras, résineux ou savonneux.

Or, les travaux des pharmacologistes ont montré que ces excipients ne possèdent par eux-mêmes qu'un pouvoir pénétrant faible ou nul à travers la peau et, en conséquence, ne favorisent qu'à un faible degré la pénétration du principe actif qu'ils renferment. Et tel est le cas de l'axonge, de la lanoline des huiles végétales couramment utilisées comme l'huile d'olive, d'arachide, d'oeillette, etc..., c'est-à-dire de la plupart des excipients classiques des pommades.

Au contraire, les constituants de certaines essences végétales (térébenthine, eucalyptus, orange douce), les hydrocarbures légers du pétrole ou des goudrons de houille et divers esters obtenus par synthèse montrent un très haut pouvoir de pénétration à travers la peau et peuvent constituer de toute évidence des véhicules mieux appropriés à la therapeutique percutanée que les excipients classiques.

Il est à remarquer toutefois que le préjugé défavorable émis à l'égard des excipients gras et des huiles en particulier ne reposait que sur les observations faites sur les quelques

huiles d'emploi courant en pharmacie, de sorte que la portée des conclusions admises ne pouvait avoir un caractère général tant qu'une étude plus étendue et plus systématique ne serait pas entreprise.

Or, c'est précisément le but que nous nous sommes proposé, d'étudier les propriétés de toute une série d'huiles animales et végétales en tant que véhicules favorisant la pénétration transcutanée des médicaments, dans l'espoir que certaines d'entre elles se montreraient douées de propriétés que la thérapeutique pourrait mettre à profit, et ce travail a été étendu aux esters éthyliques d'acides gras dérivant des huiles en question.

Nous avons eu recours, pour notre travail, à une méthode pharmacodynamique maintenant classique qui consiste à mesurer la rapidité d'action de l'ésérine sur la contractilité du muscle strié dont le nerf moteur est stimulé de façon répétée.

Comme les huiles sont des produits naturels susceptibles de variations dans leur composition, nous avons déterminé leurs constantes physiques et chimiques telles que : poids spécifique, viscosité, indice d'iode et de saponification, taux de matière insaponifiable.

De plus, la chromatographie en phase gazeuse nous a permis de connaître d'une façon certaine la composition chimique en acides gras d'un certain nombre d'huiles.

La première partie de notre travail est une mise au point des connaissances antérieures concernant les techniques d'étude de l'absorption percutanée et les propriétés des différents véhicules utilisés.

La deuxième partie comporte l'exposé de nos recherches personnelles divisé en trois chapitres. Le chapitre I a trait aux essais physiques et chimiques des huiles et le chapitre II à l'étude pharmacodynamique de ces mêmes huiles. Dans le chapitre III on trouvera l'interprétation et la discussion de nos résultats envisagés du point de vue des relations entre la composition chimique des huiles et leur activité pharmacodynamique en tant que véhicule favorable à la pénétration des médicaments à travers la peau.

-:-

Avant d'aborder l'exposé de nos recherches, nous tenons à exprimer notre respectueux attachement à Monsieur le DOYEN VALETTE qui nous a fait l'honneur de nous compter parmi ses élèves de la FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS. Ses directives demeurent pour nous un enseignement.

Nous exprimons notre déférente reconnaissance à Mademoiselle le Professeur FRANCOIS pour son accueil chaleureux dans son LABORATOIRE DE NANCY. Nous adressons également nos remerciements à tout le personnel de ce LABORATOIRE DE MATIERE MEDICALE.

Nous assurons de notre respectueuse reconnaissance Monsieur le Professeur CAVIER qui a accepté de faire partie de notre Jury de Thèse.

Nous exprimons notre gratitude à Monsieur le Professeur ROSSIGNOL auprès duquel nous avons toujours trouvé l'appui le plus cordial.

Nous tenons à exprimer nos sentiments très reconnaissants à Mademoiselle MORIN, Chef de Travaux Pratiques de Pharmacodynamie, qui s'est imposée la tâche ingrate de revoir un manuscrit imparfait, et qui pendant les années écoulées nous a dispensé son temps et son savoir. Nous lui adressons l'expression de notre fidèle souvenir et de notre affectueux attachement.

Pendant les deux ans de notre séjour, une BOURSE accordée par le GOUVERNEMENT FRANCAIS nous a permis de poursuivre et d'achever notre travail. Nous tenion à remercier le COMITE D'ACCUEIL aux BOURSIERS ETRANGERS qui s'est constamment occupé des conditions matérielles de notre séjour à Paris.

Les échantillons que nous avons utilisés dans nos recherches nous ont été fournis gracieusement par les Etablissement LASERSON ET SABETAY, et les Etablissement BERTIN à qui nous exprimons notre grande reconnaissance.

Enfin, notre pensée se tourne vers tous nos camarades de Laboratoire. Nous avons constamment bénéficié de leurs conseils et de leurs encouragements.

Que tous nos camarades du Laboratoire de Pharmacodynamie soient assurés de notre amitié reconnaissante.

P R E M I E R E P A R T I E

TRAVAUX ANTERIEURS

Avant d'aborder l'historique de l'absorption percutanée nous donnerons une description succincte de la structure de la peau. Nous exposerons ensuite l'état de nos connaissances touchant le mécanisme de l'absorption cutanée. Enfin nous décrirons les techniques utilisées pour l'étude de ce mode de pénétration des médicaments dans l'organisme.

CHAPITRE I

-:-

STRUCTURE DE LA PEAU

-:-

La peau comprend trois couches principales : l'épiderme, le derme et l'hypoderme.

On peut distinguer dans l'épiderme deux parties essentiellement différentes : une partie superficielle ou couche cornée, et une partie profonde, plus épaisse que la précédente.

Cette partie profonde comprend la couche basale ou germinative (stratum germinativum) accolée au derme et le corps muqueux de Malpighi (stratum spinosum) dont les cellules renferment des chondriosomes et des grains de pigments mélaniques en proportion variant avec les individus.

C'est dans la partie superficielle, ou couche cornée de l'épiderme, que s'effectuent de la profondeur vers la surface, les modifications cellulaires qui aboutissent à la kératinisation.

Dans la couche granuleuse (stratum granulosum), la plus proche du corps de Malpighi, le protoplasme des cellules renferme des chondriosomes et une substance lipoprotéidique basophile, appelée kératohyaline que l'on suppose être la substance mère de la kératine.

Au-dessus de la couche granuleuse, la couche brillante (stratum lucidum) constitue la zone la plus interne de la couche cornée. A ce niveau les cellules contiennent d'une part de la kératine et d'autre part une substance lipidique, l'éléidine, dérivant de la kératohyaline.

Au-dessus du stratum lucidum se trouve la couche cornée proprement dite (stratum corneum) très développée au niveau de la paume de la main et de la plante du pied, dont les cellules déformées sont imprégnées de graisses et de kératine.

La dernière couche, la plus superficielle, est la couche desquamante (stratum disjunctum) où les cellules subissent finalement la desquamation.

Les couches sous-jacentes à l'épiderme forment le derme et l'hypoderme, et sont constituées d'un tissu conjonctif fibreux richement vascularisé assurant la nutrition de l'ensemble épidermo-dermique. Tout ce système est traversé dans toute son épaisseur par les canaux sudoripares et les follicules pilosébacés. On y trouve également des vaisseaux lymphatiques et les filets nerveux s'étendant à travers le derme et l'hypoderme.

Du point de vue biochimique, la peau est un complexe, lipidique, protidique, enzymatique renfermant de l'eau et des sels.

La peau peut être considérée comme un réservoir d'eau capable de capter les excès de liquide de l'organisme (Eichelberger et coll. 1943).

Parmi les anions, le chlore est le plus abondant, probablement parce que la peau est un tissu où les liquides interstitiels sont en particulière abondance. Parmi les cations, le sodium se trouve en proportion élevée dans la peau, comparativement au taux observé dans la plupart des organes. Le rapport Na/Cl est d'environ 1,34 : 1. Le potassium se trouve en quantité plus faible que le sodium, et plus faible que le taux trouvé dans les organes.

De nombreux enzymes, se trouvent dans la peau comme l'amylase, la trypsine, la lipase, la catalase, la phosphatase, la sulfatase et la décarboxylase (Kooyman, 1932).

Le pouvoir de synthèse de la peau à l'égard de différentes substances a pu être caractérisé aussi pour le cholestérol par Windhorst et coll. 1957, et pour certains acides gras par Kitami 1960. D'après ce dernier les glandes sebacées synthétisent les acides gras à partir des acétates et du glucose.

Parmi les protéines qui constituent l'épiderme, la kératine est particulièrement importante.

La composition des kératines variera beaucoup selon l'espèce animale et le territoire considéré.

On y trouve en abondance de la cystine, laquelle est formée comme on le sait de l'association de deux molécules de cystéine, les deux groupes SH- se transformant en un pont disulfure -S-S-. On a signalé que les groupes SH- sont abondants dans les couches les plus profondes de l'epiderme, les groupes disulfure se trouvant en plus forte quantité dans les couches superficielles, c'est-à-dire les couches mortes de l'épiderme.

Les kératines sont des protéines fibreuses présentant une grande résistance aux agents d'hydrolyses acide et alcaline, aux ferments digestifs.

Elles ont une grande élasticité, se ramollissent et gonflent sous l'action de l'humidité. Le pont disulfure a une grande importance sur cette élasticité et sur la capacité d'absorption de l'eau. Harris (1942) a montré que lorsque la liaison disulfure est rompue, le coefficient d'élasticité s'abaisse au dixième de la valeur originale. Les reducteurs tels que les sulfures-alcalins ou alcalino-terreux, les cyanures et l'acide thioglycoliques réduisent les groupes -S-S- de la cystine et la rendent hydrolysable.

Une distinction peut se faire entré les kératines des planères (poils, ongles) et les kératines de l'épiderme. Les premières renferment de 3 à 5 % de soufre tandis que dans les autres on ne trouve que 1 à 3 % de cet élément.

Les lipides de la surface cutanee proviennent des glandes sébacées et des produits du métabolisme de la couche cornée. Le rôle de ces lipides en tant que barrière s'opposant à la pénétration de l'eau a été surestimé. En effet dans la composition de ces lipides, on note la présence de phospholipides et d'alcools à poids moléculaire élevé possédant un caractère hydrophile et pouvant se comporter comme émulsionnants.

La nature des acides gras de ces lipides varie selon l'âge, le sexe et le territoire cutané considéré.

Le même pourcentage d'acides gras libres est trouvé dans les graisses de l'épiderme et dans le sébum. La fraction insaponifiable des lipides de la couche cornée renferme 50 % de cholestérol, alors que l'insaponifiable des glandes sébacées ne contient pas plus de 5 % de ce stérol.

La présence d'un hydrocarbure, le squalène, est importante à signaler en raison du rôle qu'il exerce dans les processus d'oxydoréduction et de synthèse des lipides (Sobel 1949, Wheatley 1953).

Il nous reste à considérer le pH cutané. Blank a montré

que la peau est toujours acide, le pH variant de 4,2 à 5,6 chez l'Homme, chez la Femme il a trouvé des limites plus larges. Ce bas pH est dû surtout aux acides gras libres et à certains constituants de la sueur que Marchionini a appelé "manteau acide".

Ce bref rappel étant fait des caractères anatomiques biophysiques et biochimiques de la peau, nous allons dans le chapitre suivant envisager comment peut s'effectuer le passage des substances à travers la surface cutanée.

-:-

CHAPITRE II

-:-

A - MECANISME DE L'ABSORPTION PERCUTANEE

Avant de considérer le mécanisme de l'absorption cutanée, il faut définir exactement ce que l'on doit entendre par absorption percutanée et par quoi ce phénomène se différencie de la pénétration cutanée.

La pénétration cutanée à laquelle se limitent la plupart des véhicules gras, consiste en une action limitée à la zone la plus interne de la couche cornée (limites du stratum corneum et du stratum lucidum) ; l'absorption cutanée, au contraire, implique un passage à travers l'épiderme intact vers le derme et les vaisseaux sanguins ou lymphatiques qui l'irriguent, c'est-à-dire le milieu intérieur de l'organisme.

Il est quelquefois difficile de faire une discrimination entre ces deux phénomènes car certains véhicules sont tout juste capables d'arriver aux couches internes de l'épiderme tandis que les principes actifs qui y sont melanges peuvent en raison de leurs propriétés physiques ou chimiques franchir cette barrière et être finalement absorbés.

Nous avons vu que l'épiderme présente des solutions de continuité constituées par les appareils pilo-sébacés et les glandes sudoripares. Comme les glandes sudoripares, les glandes sébacées ont un rôle sécrétoire mais toute substance capable de fluidifier les lipides constituant le sébum, de les dissoudre ou de s'y mélanger ne rencontrera qu'une très faible résistance pour passer à travers la peau. L'intervention des glandes sudoripares a été très discutée mais il semble bien qu'il ne se fait aucune absorption au niveau de la paume des mains et de la plante des pieds, régions où ces glandes sont en abondance mais où font défaut les follicules pileux.

A côté de ces orifices naturels de la peau, la couche cornée représente une surface de contact avec le véhicule beaucoup plus grande que celle des glandes sébacées. Renfermant à côté des lipides, des protéines capables de fixer l'eau, elle devien-

drait, dans certains cas, permeable aux substances hydro-solubles et aux substances lipo- et hydro-solubles. Telles sont les deux théories qui s'efforcent d'expliquer la pénétration cutanée.

Il faudra cependant remarquer qu'il existe des substances comme l'ypérite, la lewisite, substances vésicantes qui montrent une certaine affinité pour les proteines et peuvent ainsi gagner le derme mais en produisant des troubles cutanés irréversibles. On ne peut donc considérer de tels phénomènes comme des exemples d'absorption ou de pénétration cutanée.

L'intervention exclusive des appareils pilo-sébacés en tant que voies de pénétration à travers la peau a reçu de multiples confirmations et est très largement admise. Cette interprétation a été exposée principalement par Valette (1954) qui a rassemblé les résultats des travaux antérieurs et ceux des expériences effectuées par lui-même et ses eleves. Nous ne ferons que rappeler les points essentiels de cette mise au point.

Ainsi que le souligne Valette, les substances qui pénètrent le plus facilement sont surtout des substances liposolubles ou miscibles aux lipides. Cependant, il faut se garder de généraliser cette conception : toutes les substances liposolubles ne sont pas directement absorbables par la peau et, d'autre part, on ne peut mettre en doute le passage de substances non liposolubles, amenées dans un véhicule convenable au contact des territoires cutanées où leur absorption devient possible. Quelles preuves sont apportées à l'appui de cette conception ?

McKee et coll. (1945) ont précisé histologiquement l'influence de divers véhicules sur la penétration de substances minérales ou organiques variees (colorants et sels colorés), dans le dessein de mettre en évidence les voies de passage. Ces auteurs ont observé, suivant le véhicule utilisé, une pénétration plus ou moins étendue jusqu'au fond des follicules pileux et des glandes sébacées et dans les cas les plus favorables, jusque dans le conjonctif avoisinant. Enfin, dans certains cas, la pénétration se poursuit par voie rétrograde depuis le derme jusqu'à la face interne de la couche cornée. De toutes façons l'épiderme n'est pas traversé directement, ce qui a été affirmé plus récemment par Barr (1962). Plus precisément, Wepierre et Valette (1962) ont observé la localisation du p-cymène marqué à l'intérieur de la peau, dans toutes les parties riches en lipides : glandes sébacees et follicules pileux.

Les facteurs physiques qui influent sur la pénétration ainsi conçue ont été bien mis en lumière par Valette, Cavier et Savel (1954), dans des expériences effectuées avec des véhicules divers, alcools, hydrocarbures, des esters éthyliques. Ces au-

teurs ont ainsi établi que les véhicules qui pénètrent par la peau dissolvent bien les lipides, peu le cholesterol et ne sont pratiquement pas miscibles à l'eau. De plus, l'augmentation de la viscosité est un facteur defavorable.

Du point de vue chimique, ces conditions optimales seront réalisées pour une certaine longueur de la chaîne carbonée, assurant une bonne liposolubilité avec une viscosité relativement faible, ce qui se dégage des expériences citees ci-dessus.

Naturellement, ces facteurs n'interviennent que dans la première phase de l'absorption, la traversée de l'épiderme. La deuxième phase est beaucoup plus complexe. Elle suppose d'abord la libération du principe actif hors du véhicule, puis son métabolisme dans les cellules vivantes, phénomènes d'ordre biochimique, où interviennent la structure de la substance et des réactions intracellulaires probablement de nature enzymatique.

L'intervention possible de la couche cornée représente un deuxième aspect du mécanisme de la pénétration, beaucoup moins simple que le précédent. Des travaux déjà nombreux ont été consacrés à ce sujet, dont les conclusions n'ont pas été encore clairement dégagées et exprimées mais qu'on ne saurait passer entièrement sous silence.

En dehors des orifices pilo-sebaces et des orifices des glandes sudoripares, la surface cutanée a eté considerée comme une barrière s'opposant à la déperdition de l'eau des cellules vivantes des couches sous-jacentes et à la pénétration de l'eau et des électrolytes. Mais il semble bien que certaines substances soient susceptibles de la franchir. En effet, Scott et Kalz (1956) ont constaté, par autoradiographie de la peau humaine, que l'hydrocortisone marquée au ^{14}C peut passer au travers de la couche cornée, aussi bien que ^{14} par les orifices pilo-sébacés. Ce résultat ne peut être négligé et oblige à considérer plus attentivement le fonctionnement de la barrière cutanée au niveau de la couche cornée.

L'existence de cette barrière ne paraît pas douteuse, bien que son siège exact soit encore très mal défini. Rein (1927) la plaçait juste au-dessous de la couche cornée : en effet, il avait constaté que celle-ci se laisse seulement imprégner par les ions et les substances de haut poids moléculaire (colorants), sans pénétration véritable au-delà.

Divers auteurs, Pinkus (1951), Szakall (1952), Blank (1953), se sont efforcés d'isoler cette zone-barrière par une technique de "stripping", consistant en un enlèvement progressif

de minces couches de l'épiderme au moyen de cellophane adhésive. Ces auteurs ont pensé y être parvenus en constatant qu'il vient un moment où la pénétration de l'eau et des substances hydrosolubles, d'abord non modifiée, s'accroît sensiblement. Ces expériences sont critiquables, car le "stripping" ne se borne pas à un simple détachement de couches cellulaires, on peut penser en effet qu'il s'accompagne, comme le massage, de modifications de la circulation (hyperhémie) qui favorisent la pénétration.

Monash (1957) et Monash et Blank (1958), reprenant la technique de Pinkus, sont arrivés à préciser ainsi le rôle de la couche cornée : les deux tiers inférieurs représenteraient l'obstacle principal à la perte d'eau, et la moitié supérieure de la partie située au-dessus constituerait l'obstacle à l'absorption cutanée.

Les auteurs précédents semblent avoir recherché plutôt la localisation que la nature de cette zone. Szakall (1955) la considère comme un filet aux larges mailles, doué d'élasticité et de résistance, propriétés que nous avons reconnues à la kératine. Shelmire (1960) assimile cette zone à une membrane semi-perméable, portant une forte charge négative. Griesemer (1960) considère qu'elle est une transition brutale entre des cellules vivantes et des cellules mortes et qu'on ne peut se livrer qu'à des spéculations sur la nature des forces qui interviennent dans cette transformation aboutissant à la kératinisation. L'examen au microscope électronique de cette jonction, effectué par Selby (cité par Griesemer) montre des ponts intercellulaires robustes et des espaces intercellulaires apparemment vides. Qu'il s'agisse d'un artefact ou d'une réalité, ces espaces doivent avoir une organisation moins serrée que les ponts et pourraient être une voie de pénétration. Le diamètre de ces pores est beaucoup plus grand que celui des plus grosses molécules pénétrantes et on peut seulement présumer que la résistance à la pénétration dans cette région est dûe à des charges électriques apportées par les constituants des parois. Une substance possédant un coefficient de partage eau-lipide d'environ 1,0 aura la plus grande perméabilité. On suppose maintenant que les parois des pores contiennent à la fois des groupes polaires et des groupes non polaires.

Pour Shelmire (1960), un des facteurs les plus importants pour la pénétration serait l'état d'hydratation de la couche cornée, qui résulte lui-même d'un certain gradient d'hydratation entre les couches cellulaires situées au-dessous de cette couche et la surface de la peau. Une augmentation de l'hydratation de la couche cornée favoriserait la penetration, non seulement par élargissement des pores, mais par modification probable des charges électriques.

On pourrait expliquer alors pourquoi le dégraissage de la peau, qui favorise la pénétration de l'ésérine et de l'insuline, diminue celle des salicylates. Cette opération enlève non seulement les graisses du sébum, mais aussi des phospholipides qui favorisent la rétention de l'eau par l'épiderme. Des expériences récentes de Wurster et Kramer (1961) ont montré que la pénétration des esters salicyliques (méthyle, éthyle et propylène-glycol) se fait beaucoup mieux à travers la peau hydratée qu'à travers la peau sèche. Le dégraissage, en particulier, diminue la pénétration.

Nous pensons qu'il existe, en réalité, deux barrières à la pénétration cutanée, opinion déja suggérée par Malkinson en 1960 : une barrière lipidique, qui sera aisément franchie au niveau des orifices pilo-sébacés par les substances liposolubles et une barrière plus complexe, qui a son origine dans les couches kératinisées et où interviennent des charges électriques, dont on ne connait pas encore la répartition. Un facteur important à ce niveau serait l'état d'hydratation de la couche cornée.

Il faut avouer que ce second aspect représente à l'heure actuelle un champ de recherche mais qu'aucune explication claire et convaincante d'un mécanisme de pénétration à ce niveau n'a été encore présentée.

Le fait expérimental que nous avons souligné plus haut, la pénétration de l'hydrocortisone marquée au travers de la couche cornée, incite à penser naturellement que d'autres substances peuvent emprunter ce chemin.

B - METHODES D'ETUDE DE L'ABSORPTION PERCUTANEE

Les différentes méthodes d'étude de l'absorption percutanée sont fondées principalement sur la détection et éventuellement le dosage dans les tissus, organes, ou "excreta" de l'organisme, d'une substance appliquee sur l'épiderme.

L'expérimentation est réalisée le plus souvent "in vivo". Mais certains essais préliminaires ont pu être effectuées "in vitro" sur la peau isolée ou sur un milieu artificiel se rapprochant plus ou moins par sa structure de la texture hétérogène de la peau. Ces dernières méthodes apportent des renseignements utiles, certes, dans l'étude de l'absorption percutanée, mais on est d'accord pour les considérer surtout comme des méthodes d'orientation. En tout cas elles ne peuvent apporter de résultats valables qu'en ce qui concerne la pénétration d'une subs-

tance dans la peau, mais non son absorption au sens psychologique du mot, à travers la peau. Récemment Wurster coll. (1960-61) ont mesuré l'adsorption par la kératine de certaines substances comme certains acides gras, les lipides extraits de la peau humaine et les alcools de la lanoline etc... Bettley (1962) de son côté a utilisé des fragments de peau humaine pour étudier la diffusion de l'eau et ainsi l'augmentation de perméabilité à l'eau ou à diverses substances sous l'effet des savons.

Les méthodes "in vivo" peuvent être classées en :

- Méthodes histologiques et histochimiques
- Méthodes chimiques
- Méthodes pharmacodynamiques
- Méthodes fondées sur l'emploi des radioisotopes

1) Méthodes histologiques et histochimiques

Ces méthodes ont été employées tantôt "in vivo", tantôt "in vitro". Elles consistent essentiellement, après application sur la peau d'une substance déterminée à déceler cette dernière par examen microscopique dans l'épaisseur du tissu cutanée. On s'est servi de cette méthode pour l'étude de la pénétration du mercure (Neumann 1871, Wile et Elliott 1917, Schamberg et coll. 1918, et Welander (1900).

A l'aide de colorants (Soudan IV, écarlate de Biebrich) la voie de pénétration des véhicules gras ou liposolubles a pu être mise en évidence Eller et Wolff (1939), Harry (1941), Strakosch et coll. (1943), McKee et coll. (1945).

La microscopie en lumière ultraviolette a été mise à profit pour déceler des substances fluorescentes naturelles ou de synthèse (Montagna (1954), Helander (1945), Butcher (1957).

D'autres méthodes, histochimiques ont consisté à précipiter des substances dans les tissus. C'est par diverses réactions spécifiques de précipitation et décoloration que l'on a pu révéler la possibilité de réactions d'oxydoréduction, au sein de la peau, comme Moncorps a pu vérifier la pénétration du soufre (1929), McKee et coll. (1945) celle des sulfamides et du bismuth, Harry (1941) celle de l'oxyde jaune de mercure, et Bourne (1957) celle de l'adrénaline.

Ces méthodes ont été l'objet de plusieurs critiques. On a pu dire en effet avec juste raison, que le sort d'un colorant introduit au sein d'un véhicule n'était pas nécessairement lié au sort de ce dernier. D'autre part le glissement du rasoir dans le débitage des coupes peut entraîner dans la profondeur une

substance située à la surface du fragment traité.

2) Méthodes chimiques

Pour qu'une substance solide penètre à travers la peau, il faut qu'elle soit préalablement solubilisée dans un véhicule, et l'on a tenté d'apprécier le degré de pénétration des véhicules d'après le taux de substance absorbée ou éliminée. De cette façon, en dosant la substance dans un organe déterminé (le mercure dans le rein, l'iode dans la thyroïde) ou bien dans les excreta, de nombreux travaux ont été réalisés. Il faut toutefois remarquer que cette méthode ne permet pas de mesurer exactement le taux de l'absorption, si la substance considérée est en partie métabolisée ou éliminée par une voie différente de celle qui a été envisagée.

La pénétration cutanée de l'acide salicylique a fait l'objet de nombreuses expériences fondées sur le dosage de cette substance dans le sang ou les urines (Ducommun 1950, Nogami et coll. 1956, Kvorning 1956, Sidi et coll. 1958, Gemmel et Morrisson 1958 et Stolar 1960).

Les recherches ont porté également sur les esters et sels de cet acide (Brown et Scott, 1934, Cotty et coll. 1960, Febvre et coll. 1961).

D'autres travaux ont été consacrés à la pénétration de l'iode par Meyers et coll. 1949, Ducommun 1950 et Febvre et coll. 1961 ; du mercure par Laug et coll. 1947, du soufre par Strakosch 1943, de la phénolphtaléine par Meyers et coll. (1949), Nadkarni et coll. (1951), Bhatia et coll. (1952).

Par les méthodes chimiques, Czetsch-Lindenwald (1934) a essayé de mettre en évidence la pénétration, non plus des substances activées, mais des véhicules (vaseline, lanoline et graisses) en dosant dans l'épiderme le taux d'insaponifiable ou le taux de cholestérol, avant et après onction.

Un autre type de méthode employe par Kvorning (1950) consiste à appliquer un poids détermine de substance et après un certain temps, à l'enlever et à doser la partie non absorbée. Cette méthode est évidemment critiquable si on l'applique à l'étude des véhicules gras car des constituants de l'épiderme peuvent s'y solubiliser et d'autre part certains véhicules resteront inclus dans les premières couches de l'épiderme sans pénétrer au-delà. Si la même méthode est appliquée à l'étude de l'absorption d'un principe actif dont une très petite quantité est absorbée, les causes d'erreur seront trop nombreuses pour que le procédé puisse être reconnu comme valable.

3) Méthodes pharmacodynamiques

Ces méthodes consistent à noter l'apparition et éventuellement à apprécier l'intensité d'une réponse pharmacologique caractéristique d'une substance déterminée après application de cette dernière sur la peau. Ces méthodes apportent la démonstration irréfutable de la pénétration du principe actif et elles ne sont pas passibles des critiques précédentes, mais elles ne peuvent s'appliquer qu'à un nombre limité de substances.

Les réactions pharmacologiques que l'on peut mettre à profit sont très variées : augmentation de la pression sanguine (Luduena et coll. 1948), action vasodilatatrice (Stoughton et coll. 1960), accroissement de la sécrétion lacrymale (Hadgraft et coll. 1954), anesthésie générale (Macht, 1937), action analgésique (Potelunas et coll. 1949, Valette et Etcheverry 1957, Brockemeyer et coll. 1955), apparition de convulsion (Valette et Huerre (1957), Macht (1938), réaction urticarienne (Shelley et coll. 1949, Walzer 1940), réaction toxique (Faulkner 1933, Valette 1945).

Parmi les substances qui ont été utilisées figurent d'abord les alcaloïdes, sous forme de bases ou de sels (Miyasaki (1931), Macht et coll. (1916), Macht (1938), Valette (1954), Valette et Cavier (1954), Hadgraft et coll. (1954), et Meyer et coll. (1958-59).

L'absorption cutanée de glucosides cardiotoniques a été étudiée par Meyer (1960).

A côté des alcaloïdes et des glucosides, les hormones ont permis d'utiliser divers tests d'activité spécifique (Zondek 1929, Valette et Cavier 1946, Fussgänger 1934, Valette et Huerre 1957, Emmens 1941, Moore et coll. 1938, Scott 1940, et Greene et coll. 1941).

La production des phénomènes d'avitaminose et d'hypervitaminose a été utilisée par Eller et Wolff (1940) et Mandelbaum (1942) pour les vitamines A et D.

4) Méthodes fondées sur l'emploi des radioisotopes

Les méthodes faisant intervenir les éléments radioactifs peuvent être assimilées aux méthodes histologiques et chimiques puisque l'on utilise un élément marqué capable d'être finalement décelé dans les tissus ou organes de l'animal. Cette méthode qui est à la base d'un grand nombre de travaux récents, est d'une importance fondamentale pour montrer les voies d'introduction de diverses substances à travers la peau (Axelrod et coll. 1947,

Scott et coll. 1956, Blank et coll. 1958 et Wepierre et Valette 1962).

Cependant, l'utilisation des radioisotopes n'échappe pas aux critiques formulées à propos des méthodes précédentes, auxquelles s'ajoutent les causes d'erreur apportées par la radioactivité.

Scott et Kalz (1956), qui ont observé le passage de l'hydrocortisone marquée, estiment qu'on ne peut affirmer si c'est l'hydrocortisone elle-même ou une fraction de la molécule renfermant $_{14}C$ qui a réellement traversé la peau.

Blank (1960), après avoir synthétisé un agent anticholinestérasique avec $_{15}P$, constate que ce composé subit une décomposition au cours de la traversée de la peau, si bien qu'on dose sur l'autoradiogramme une quantité supérieure à la quantité de principe actif qui a effectivement pénétré.

En dehors de ces causes d'erreurs, dues à une possible transformation de la molécule marquée au cours de son passage à travers la peau, les dangers de contamination sont très fréquents. Si l'élément utilisé émet une forte radio-activité, celle-ci peut diffuser au-delà des cellules contenant le principe actif. Enfin, des substances réductrices présentes normalement dans les tissus peuvent donner lieu, par réaction chimique avec l'émulsion photosensible, à des taches qui apparaissent sur l'autoradiogramme en des points où il n'existe pas de radio-activité.

Il apparaît ainsi que l'utilisation des radio-isotopes dans l'étude de la pénétration cutanée peut donner des renseignements précieux mais que les résultats obtenus doivent être soigneusement analysés et vérifiés plus encore que dans les méthodes courantes.

-:-

CHAPITRE III

-:-

HISTORIQUE DES VEHICULES UTILISES EN THERAPEUTIQUE CUTANEE

-:-

L'application sur la peau de liquides aqueux ou alcooliques, d'huiles ou de graisses variees, comme véhicules de médicaments remonte à la plus haute Antiquite.

Ces baumes, liniments, pommades ou emplâtres étaient administrés parfois en vue d'une action limitée au lieu d'application, mais parfois aussi en vue d'une action plus profonde pouvant s'étendre à l'organisme tout entier.

Depuis, l'absorption percutanée n'a cessé d'être étudiée et discutée, sans être encore parfaitement éclaircie. Parallèlement à l'évolution de ce probleme, la recherche de véhicules convenables a bénéficié aussi des progres de la chimie extractive et de la chimie de synthèse. Actuellement, les dermatologues et les thérapeutes disposent d'une grande variété de substances susceptibles de servir de support à des principes actifs : huiles et graisses naturelles, plus nombreuses qu'autrefois, solvants organiques, corps gras de synthèse, acides gras et leurs esters, enfin, véhicules complexes modifiés.

Nous allons passer ces véhicules en revue en considérant pour chacun son action propre sur la peau et son action sur le passage des drogues.

1) Eau et produits miscibles à l'eau

Il est classique d'admettre que la peau est imperméable à l'eau et aux solutions aqueuses. A l'appui de cette conception viennent les observations anciennes de Seguin (1814), Homolle (1853), Poulet (1856), dans lesquelles les auteurs ont montré qu'aucune action toxique ne se manifestait sur un sujet humain après immersion prolongée dans une solution.

Le seul cas où l'absorption de l'eau semble avoir été démontrée est rapporté par Szczesniak et coll. (1951) : en plon-

geants des Rats dans un bain contenant 6 parties d'eau ordinaire et 4 parties d'eau lourde, ces auteurs ont pu mettre en évidence le deutérium dans le sang du coeur et de la queue.

On ne peut toutefois affirmer s'il s'agit d'une absorption véritable, ou simplement d'un phénomène d'échange entre les molécules des tissus et les molécules de l'eau lourde. On peut seulement affirmer que l'épiderme, et particulièrement la couche cornée, reste imbibé par la solution aqueuse.

Le passage des substances dissoutes dans l'eau est exceptionnel et résulte toujours de conditions anormales, lorsque la barrière cutanée est détruite par traumatisme mécanique ("peeling"), physique (dégraissage avec des solvants), ou chimique (exposition de la peau à un pH supérieur à 11,5). Ainsi peut s'appliquer l'absorption cutanée du bleu trypan (Imschenetzky 1930), du monosulfure de sodium (Roques, et coll. 1938), du polysulfure marqué au 35 S (Neesbay et coll. 1957), des antigènes (Golowanoff, 1926, et Walzer, 1940) et de l'insuline (Valette et Spirig, 1949), après dégraissage de la peau.

De même, la glycérine et les glycols ne semblent pas doués de pouvoir pénétrant. Cependant les glycols peuvent dans certains cas favoriser le passage de certains médicaments. C'est ainsi qu'avec le polyéthylène-glycol on a pu constater le passage de l'iodure de potassium (Meyers et coll. 1949), des corticostéroïdes (Valette, Huerre et Zizine, 1957) et surtout de la phénolsulfone phtaléine (Meyers et coll. 1949), Bhatia et Zopf 1952), mais les résultats obtenus, d'un caractère trop fragmentaire, n'ont pas conduit à l'utilisation courante de ces véhicules.

2) Graisses et huiles

Ces excipients sont d'une utilisation courante en pharmacie et il semble que l'axonge ait ete le véhicule gras le plus apprécié par les Anciens en vue de réaliser une pénétration à travers l'épiderme de substance active de nature variée.

La question s'est posée toutefois de savoir si ces véhicules classiques que sont les graisses et les huiles animales ou végétales sont susceptibles de traverser la peau intacte ou bornent seulement leur action à une pénétration au sein de l'épiderme en amenant le principe actif en des points où il est susceptible d'être absorbé pour son propre compte.

A - Nous citerons tout d'abord les expériences dont les résultats paraissent en faveur d'une pénétration de ces véhicules eux-mêmes.

Ce problème a été abordé par des méthodes histologiques, par des méthodes chimiques et par l'utilisation d'éléments marqués.

Les méthodes histologiques ont apporté à cet égard des renseignements précieux.

Lassar (1879) a procédé chez le Lapin à des examens histologiques après onction avec différentes huiles et a trouvé dans les follicules pileux des gouttelettes colorées par l'acide osmique.

Sutton (1908), à la suite de frictions avec l'huile d'olive, l'axonge et la graisse d'oie colorées par la fuschine ou l'écarlate, ne trouve une coloration qu'au niveau des glandes sébacées. Cet auteur a travaillé sur le Lapin et le Cobaye.

Eller et Wolff (1939) étudient, chez le Lapin, la pénétration de l'huile d'olive, de l'huile de foie de morue, de la lanoline hydratée et de la vaseline. Ils demontrent qu'elle se fait par les glandes sébacées et que les huiles pénètrent plus rapidement que les graisses. Les graisses animales pénètrent mieux que les végétales et celles-ci mieux que les huiles minérales.

Harry, en 1941, en utilisant des colorants liposolubles conclut à la pénétration des graisses et des huiles, et aussi des acides oléique et linoléique. Il expérimente sur la peau du Rat et du Lapin et sur la peau humaine, prélevée sur une jambe enduite avant l'amputation. L'acide oléique pénètre mieux dans les follicules pileux que les graisses, viennent ensuite les graisses animales (axonge, huile de foie de morue, lanoline, graisse d'oie) et aussi, acide linoléique, enfin se placent les huiles d'olive, de tortue et d'avocat. La vaseline ne pénètre pas, mais l'addition de cholestérol semble améliorer le passage.

Kvorning (1950) ne constate à la suite de ses expériences aucune pénétration pour la vaseline, la lanoline et le cholestérol dissous dans l'huile d'olive, mais on peut critiquer la méthode utilisée qui consiste à enlever au moyen d'un solvant les substances appliquées sur la peau et à procéder à une estimation par différence.

D'autres auteurs ont eu recours à des méthodes chimiques variées et à l'emploi des éléments marqués, pour déceler le passage des graisses dans les tissus, après application sur la peau.

Ainsi, Czetsch-Lindewald (1943) dose le taux de cholestérol après emploi de lanoline, l'augmentation du taux d'insaponifiable après emploi de vaseline, mais les résultats sont négatifs. Avec l'huile de lin hydrogénée par le deutérium, l'auteur n'est pas arrivé à retrouver dans le sang l'élément marqué, mais il faut tenir compte du fait que l'hydrogénation de l'huile a abouti à la formation d'acide stéarique.

Butcher est arrivé à un résultat du même ordre (1953) en recherchant l'acide stéarique marqué dans le sang du Rat. Dans d'autres expériences (1951), il a observé, chez le Rat, les modifications subies par les différentes couches de la peau après onction avec divers véhicules : lanoline anhydre, huile de ricin, vaseline, huile d'olive, acide oléique. Les deux dernières substances ont amené les modifications les plus importantes et l'auteur en déduit qu'elles sont probablement plus pénétrantes que celles qui, comme la lanoline, ne modifient pas l'épiderme. Le même auteur a évalué par fluorescence (1953), la pénétration des graisses et des acides gras additionnés d'anthranilate de méthyle. L'acide linoléique semble traverser l'épiderme très vite : après 20 minutes il se trouve dans les vaisseaux sanguins, mais, après plusieurs jours d'application, on observe un épaississement de la couche cornée. L'acide oléique est retrouvé aussi dans les capillaires sanguins mais plus tardivement. La lanoline et l'acide ricinoléique sont retenus dans la partie supérieure de la couche cornée, et le squalène ne pénètre pas.

Ces résultats amenèrent à expérimenter plus largement sur des acides gras.

Butcher (1957) et Montagna (1954) avaient remarqué l'effet antikératinisant des acides oléique et linoléique. Wurster et Dempski (1960) ont mesuré l'adsorption dans une colonne de poudre de kératine, anhydre et hydratée, de nombreux acides gras (stéarique, palmitique, oleique, linoleique et linolénique) des lipides de la peau humaine, du cholesterol, des alcools stéarylique et ricinoléique, du palmitate de cholestérol, et des acides gras de la lanoline. Seuls sont adsorbés les acides linoléique et linolénique, les lipides de la peau humaine et les acides gras de la lanoline. En 1961, les mêmes auteurs ont mesuré la perméabilité des tissus hyperkératinisés (callosités prélevées sur la peau humaine) à l'acide oléique, l'acétate de cholesterol, et aux acides oléique, linoléique et linolénique. Les résultats de ces expériences conduisent à penser que les substances qui sont adsorbées par la kératine ont une pénétration lente.

Bien que les différents résultats apparaissent assez contradictoires, l'affinité de certains acides gras pour la kératine de la peau est un fait bien établi.

A la suite de ces données théoriques, il importe de noter que l'utilisation pratique et systématique des acides gras est

très rare. Ils interviennent fortement dans les huiles lorsque celles-ci ont subi un certain rancissement. On a pu remarquer que l'utilisation des huiles pour le nettoyage de la peau ne provoque une réaction d'irritation que lorsqu'elles renferment des acides gras libres.

Ces résultats tendraient à faire admettre que les acides gras peuvent traverser la peau, fait qui n'a pas été prouvé pour les graisses et les huiles. Rothman (1954) attribue à la haute viscosité de ces dernières substances l'impossibilité de leur pénétration.

B - Faisons maintenant état des expériences où l'on a pu démontrer que les véhicules non pénétrants à travers la peau se montrent pourtant capables pour la plupart d'entraîner différents principes actifs à travers le tégument.

a) Lanoline

Selon Liebrich (1885), la lanoline a le pouvoir de diffuser dans les différentes couches de la peau. Cependant, Unna et Frey (1929) ont montré que ce véhicule était capable de pénétrer seulement dans les couches les plus superficielles de l'épiderme et principalement dans la couche cornée.

Pour Matschak (1936), la lanoline hydratée permet une meilleure absorption cutanée de l'acide salicylique que la lanoline anhydre.

Comme véhicule des iodures, la lanoline hydratée a donné de bons résultats à Skauen et coll. (1949), par contre Febvre et coll. (1961) n'ont pas retrouvé de traces d'iode dans les urines du Rat, en utilisant ^{131}I.

Macht, en 1938, en utilisant divers principes actifs : strychine et ses sels bichlorure de mercure et iode, arrive à la conclusion que la plupart des véhicules gras simples ne sont pas absorbables par la peau, les meilleurs résultats étant obtenus avec la lanoline.

L'absorption de la testostérone, incorporée à de la lanoline, a été étudiée par Moore et coll. (1938), en utilisant comme preuve du passage de l'hormone, le rétablissement de l'éjaculation chez le Cobaye castré et l'accroissement pondéral des vésicules séminales chez le Rat castré. Cette dernière méthode a été employée aussi par Scott (1940). Les résultats obtenus par l'ensemble de ces auteurs sont en faveur de la lanoline.

Comme agent de pénétration de la vitamine A, l'efficacité

de la lanoline a été démontrée par Mandelbaum et coll. (1942) chez l'Homme.

De l'ensemble de ces donnees, il résulte que l'efficacité de la lanoline en tant que véhicule favorable à la pénétration cutanée apparaît très réduite. Nous verrons à propos des émulsions l'intérêt de la lanovaseline hydratée dans la pénétration des hormones.

b) Axonge

En utilisant une méthode histo-chimique, Moncorps (1929) a montré que l'axonge est plus favorable que les autres excipients (vaseline, eucérine) à l'absorption cutanée du soufre. Après injection locale d'une suspension de sous-nitrate de bismuth, par voie sous-cutanée, on applique la pommade soufrée dans la région intéressée ; le noircissement du bismuth injecté (sulfure de bismuth) témoigne de la réduction du soufre en hydrogène sulfuré sous l'action des processus d'oxydo-réduction qui peuvent se localiser au niveau de l'epiderme.

Avec la diodi-fluorescéine marquée à ^{131}I, Hadgraft et Somers (1956) montrent la supériorité de l'axonge sur la vaseline.

Pour Ducommun (1950), l'axonge est le seul véhicule capable de faire pénetrer l'iodure de potassium par voie cutanée chez l'Homme.

Parmi les substances actives essayées dans les expériences de Valette et Huerre (1957) (ésérine, cardiazol, testostérone) l'axonge s'est montrée efficace seulement dans l'absorption cutanée de la testostérone. Après dégraissage de la peau du Rat à l'éther de pétrole, Huerre (1961), au moyen de la technique qui sera décrite plus loin, observe la pénétration de l'ésérine au sein de l'axonge, dans un delai de 82 minutes, ce qui représente un résultat tres médiocre. L'auteur avait pensé que les résultats positifs de certaines expériences avec l'axonge pouvaient être dûs au rancissement de cette substance, les acides gras libérés étant capables de modifier le temps de pénétration. Cependant, les essais comparés effectués avec l'axonge rance et l'axonge fraîche n'ont pas apporté de différence. Les résultats des essais réalisés avec les acides gras pouvant être contenus dans l'axonge seront rapportés plus loin.

Pour Gemmel et Morrisson(1958), l'axonge est le meilleur véhicule permettant l'absorption des sulfamides.

Enfin Febvre et coll. (1961) ont constaté que l'axonge était légèrement supérieure à la vaseline et à la lanoline pour

la pénétration de l'iodure de potassium, de l'acide salicylique et du salicylate de sodium.

c) Huiles végetales et animales

Nous avons trouvé peu de travaux concernant la valeur des huiles en tant que véhicules favorables à l'absorption cutanée.

L'emploi des huiles a ete proposé par divers auteurs pour l'introduction des hormones (Fussgänger (1935), Zondeck (1939), Emmens (1941)) : les résultats ont été favorables en général, mais les véhicules alcooliques, les huiles essentielles et les solvants organiques non huileux se sont montrés très superieurs quant à leur effet sur la pénétration.

Les vitamines liposolubles ont été aussi essayées par Amrhein (1934) : dans le cas de la vitamine D, il a été constaté que la nature de l'huile, végétale ou minérale, n'avait pas d'importance.

Brown et Scott (1934) appliquant une solution à 5 % de salicylate de méthyle dans l'huile d'olive, sur la peau de l'Homme, retrouvent seulement des traces de composé salicylé dans l'urine. En 1960, Cotty et coll., en mesurant le taux de salicylate de méthyle dans le sang, chez le Lapin, ont determiné la vitesse de penetration de ce composé au sein de diverses huiles et graisses. L'huile de vison s'est montrée supérieure aux autres huiles animales et végétales et aux graisses naturelles. En ce qui concerne leur effet sur la pénétration, ces différents véhicules se classent de la manière suivante : huile de vison, huile d'olive, huile de foie de morue, axonge, huile d'arachide; mais, de manière surprenante, la plus grande pénétration a été trouvée pour la vaseline.

d) Acide gras et esters

Avec l'emploi comme véhicules des acides gras et de leurs esters, les résultats sont plus favorables sur l'absorption cutanéa.

Valette et Cavier (1954) ont étudié grâce au passage de l'ésérine par la peau du Rat, les esters éthyliques d'une série d'acides gras renfermant 3 à 10 atomes de carbone. L'isovalérianate d'éthyle a fourni la pénetration la plus rapide (19 minutes), peut-être à cause de la ramification de la chaîne. Le temps de pénétration s'accroît rapidement avec la longueur de la chaîne et atteint 55 minutes pour le caprinate d'éthyle.

Huerre (1961) a pensé, comme nous l'avons rapporté, que les résultats positifs donnés par l'axonge dans certains cas pou-

vaient être dus à la présence d'acides gras libérés par son rancissement. Il a étudié, par la méthode mentionnée ci-dessus, la vitesse de pénétration pour six acides gras saturés (de C_6 à C_{18}). Les deux premiers termes sont caustiques pour la peau et leur vitesse de pénetration est faible. Les termes supérieurs sont bien tolerés, et à l'exception de l'acide caprylique, ne pénètrent pas (acides pélargonique, undécylénique, oléique). Le même auteur recherchant des produits dérivés dépourvus d'odeur désagréable et d'action irritante, a essayé les esters éthyliques des homologues superieurs des acides gras, représentant une chaîne totale de 8 à 18 atomes de carbone. La meilleure pénétration s'est manifestee pour le terme en C^{12} (caprinate d'éthyle) mais on ne retrouve pas un ordre d'activité en relation avec la longueur de la chaîne carbonée, comme dans le cas des esters éthyliques inférieurs.

Les essais effectués par Huerre avec les esters méthyliques, ethylique et isopropylique de l'acide oléique ont donné des temps de penétration qui sont à peu près les mêmes que celui de l'ester ethylique de l'acide undécylénique.

3) Vaseline

La pénétration de principes actifs incorporés à la vaseline a été l'objet de nombreux travaux qui ont rarement donné des résultats satisfaisants.

Fauconnet, en 1906, avait pensé que la vaseline était un véhicule d'activité superieure, comparativement au coldcream ou à la lanoline, pour activer la pénétration de l'iodure de potassium à travers la peau.

Nous avons déjà signalé le travail de Cotty et coll. (1960) qui obtiennent avec la vaseline les meilleurs résultats pour l'absorption de salicylate de méthyle.

Comme véhicule de la delta-hydrocortisone, Huerre (1961) reconnaît à la vaseline une efficacité remarquable et inattendue, tandis que cet excipient se montre inefficace pour la pénétration de l'ésérine, du pentétrazol et de la testostérone.

En regard de ces quelques resultats favorables, l'énumération des échecs serait longue si bien que l'on ne peut considérer la vaseline comme un véhicule adapté à la thérapeutique percutanée. Si ce véhicule a été si souvent employé, c'est à cause de sa stabilité et son inactivité chimique à l'égard de la plupart des principes actifs, et c'est peut être cette neutralité chimique qui permet d'expliquer les bons effets de la vaseline dans les cas cités plus haut.

Nous avons vu que certains auteurs prétendent pouvoir améliorer l'effet de la vaseline sur la pénétration en l'additionnant de cholestérol (Harry 1941). La vaseline cholestérolée aurait donné des résultats favorables dans la pénétration du soufre (Fasal, 1932), de la diiodo-fluorescéine (Hadgraft et coll. 1956) et de l'acide salicylique (Mutimer et coll. 1956). Cependant, cette influence du cholestérol est très contestée, comme nous l'avons vu.

4) Solvants organiques et huiles essentielles

La notion d'une traversée rapide de l'épiderme par les solvants organiques et les huiles essentielles a été exposée dès 1841 par Salles, puis reprise par Parisot (1863), Scoutteten (1866), Linossier et Lannois en 1896. Parisot a été un des premiers à avoir prouvé que l'éther et le chloroforme sont rapidement absorbés par la peau ; en faisant pénétrer par cette voie chez l'Homme des solutions d'atropine, l'auteur a observé que la dilatation de la pupille se manifeste en quelques minutes, pour l'éther et le chloroforme, et en une demi-heure environ pour l'alcool.

En 1891, Winternitz a observé la mort du Lapin en 20 minutes par application sur la peau d'une solution chloroformique à 10 pour cent de strychine.

Joachimoglu (1924) a utilisé le vert malachite pour suivre la pénetration du chloroforme et d'autres solvants chlorés et il a constaté qu'à faibles doses l'epiderme seul est atteint. Lazarew (1932) a réussi à faire pénétrer des narcotiques (hydrate de chloral, uréthanne, barbiturique) avec le chloroforme.

De manière plus directe, Lazarew et coll. (1931) ont confirmé l'absorption du benzène et de benzol par la peau de la Souris et du Lapin, par l'analyse de l'air expiré.

Pour Miyazaki (1931) l'acide salicylique et le salicylate de sodium sont mieux absorbés à travers la peau quand ils sont appliqués dans l'alcool que dans la vaseline. Nyiri et Jannitti (1932) ont également observé la pénétration cutanée de l'iode en solution alcoolique.

Notons qu'une acétonurie anormale a été causée par l'absorption d'acétone à travers la peau (Valdiguié et coll. 1944).

Tous ces essais pratiqués avec les solvants organiques les plus courants ont toujours donné des résultats positifs.

Valette et Cavier (1954) ont étudié aussi différents li-

quides volatils : hydrocarbures aliphatiques, alcools benzeniques, acétates d'alcoyles, en utilisant chez le Rat le test à l'ésérine dont il sera question plus loin. Dans le cas des hydrocarbures aliphatiques saturés, les termes les plus pénétrants sont situés entre C_6 et C_9. Les hydrocarbures benzéniques ne montrent pas de grandes différences de penétration, le toluène pénètre mieux que le benzène ; l'isopropylbenzène et le cymène sont les plus pénétrants. Avec des hydrocarbures cyclaniques et cyclèniques, comme dans le cas précédent, on constate aussi que l'addition d'un radical isopropyle ou méthyle dans le noyau favorise la pénétration. Pour les alcools jusqu'à C_4 il n'y a pas de pénétration notable, la pénétration maximale a été pour l'heptanol normal.

Meyer et coll. (1958, 1959) ont étudié aussi la pénétration de l'ésérine chez la Souris et essayé les hydrocarbures insaturés, du pentène jusqu'à l'hexène, la série des alcools aliphatiques, les alcools aliphatiques bromés, les aldéhydes, ainsi que le cyclohexane, le cyclohexanol, la cyclohexanome, l'acétylacétone, l'acétylacétate d'éthyle, le bromure d'allyle. Comme dans le cas précédent, les substances ayant une chaîne carbonée composée de 6 atomes de carbone se sont montrées les plus pénétrantes.

Les conclusions de Huerre (1961) ont été les mêmes avec les hydrocarbures paraffiniques bromés : le terme le plus pénétrant est le bromo-hexane.

Quant aux essences végétales, Paffrath (1934), en employant un mélange d'essences de thym, d'eucalyptus, de térébenthine, et de cyprès a pu caractériser les constituants de ce mélange dans l'air expiré.

Les travaux de Macht (1938) ont démontré que l'absorption par la peau de certaines essences donne des réactions toxiques et les autopsies des animaux ont révélé des lésions des reins et des centres nerveux. A doses plus faibles, toutes les essences provoquent une période d'excitation suivie d'une période de dépression directe. Les essences de thym, jasmin et tanaisie semblent les plus toxiques. Le même auteur utilise aussi des composés aromatiques liquides constituants des huiles essentielles: alcool fenchylique et benzylique, anéthol, eugénol, phellandrène, safrol et essence de térébenthine, pour véhiculer l'ésérine. L'animal répond par des phénomènes toxiques caractéristiques : myosis, ralentissement du coeur, etc...

Valette (1945) a confirmé chez le Lapin, la pénétration des diverses essences et a pu les classer par ordre décroissant de la façon suivante : essence de térébenthine, de thym, d'eucalyptus, α pinène, eucalyptol, acétate de linalyle et acétate

de géranyle. Chez la Souris, l'emploi de l'aconitine dans les solvants précédents a donné des résultats analogues. Ce même auteur avec Cavier (1946-1948) a pu constater que l'eucalyptol, véhicule des hormones liposolubles par voie percutanée, assurait une action particulièrement favorable tout à fait comparable à celle obtenue par injection de ces hormones en solution huileuse.

La conclusion générale qui se dégage de ces travaux est que l'action favorable des solvants organiques et des essences sur la pénétration cutanée est en relation directe avec leur pouvoir de dissoudre les lipides.

5) Véhicules complexes dérivés des huiles, émulsions, mouillants etc ...

Nous nous sommes adressé jusqu'à présent aux véhicules les plus simples : eau, huile, graisses, vaseline, solvants organiques et essences. Aucun de ceux-ci ne peut être considéré comme l'excipient idéal.

La vaseline ne peut être employée que comme un véhicule de surface. Les graisses et les huiles, douées d'un pouvoir de pénétration moyenne, ont le désavantage de s'altérer, de rancir et de changer de composition chimique. L'addition d'anti-oxydants peut aboutir à des résultats non désirables, par exemple, l'utilisation de l'hydroquinone a donné des réactions secondaires fâcheuses sur la peau du Lapin (Hadgraft, 1961) alors que d'autres anti-oxydants tels que le gallate de propyle, ou le tocophérol, ne semblent pas irritants vis-à-vis de la peau.

Les solvants organiques et les essences, bien qu'ayant des propriétés pénétrantes, sont d'odeur prononcée, et leur consistance liquide les rend peu propices à l'application en couche épaisse.

Tous ces inconvénients ont fait envisager la modification de certains caractères physiques ou chimiques des véhicules.

En particulier, dans le cas des huiles et des graisses, on s'est efforcé de les rendre plus hydrophiles, se fondant sur la théorie longtemps soutenue mais cependant très contestable, qu'une substance doit être lipo- et hydrosoluble pour traverser la peau. Ces considérations ont abouti à la création de véhicules de types variés :

- émulsions
- mélanges plus ou moins complexes
- huiles interestérifiées.

a) Emulsions

Une émulsion est constituee par deux phases non miscibles dispersées l'une dans l'autre, rendue stable à l'aide d'un émulsifiant. Suivant la nature de la phase dispersée, on aura deux types d'émulsion : eau-dans-l'huile ou huile-dans-l'eau.

L'usage des émulsions recueille de plus en plus de succès en dermatologie et cosmétique. Nous allons voir toutefois si le fait d'émulsionner une huile la rend effectivement plus absorbable par la peau.

Avec l'acide salicylique, Moncorps, en 1938, Valette et César (1948), Polano et coll. (1950), et en 1960, Stolar et coll., ont signalé la supériorité des émulsions huile-dans-l'eau.

Huerre (1961) a étudié différents types d'émulsions huile-dans-l'eau (Stéarate 15, Cétaline, Sédétine) ou d'émulsions eau-dans-l'huile (lanovaseline hydratée, coldcream Codex, Lipidine) en utilisant cinq épreuves pharmacodynamiques : pénétration de l'ésérine chez le Rat, allongement du temps de réaction à la douleur chez la Souris par application de dihydrone, apparition des convulsions chez la Souris à la suite des applications de pentétrazol, mesure de la croissance de la crête du poussin sous l'action de testostérone, et augmentation du glycogène hépatique par la deltahydrocortisone chez le Rat surrenalectomisé.

Dans tous les cas la supériorité des émulsions eau-dans-l'huile a bien été démontrée. Il faut particulièrement souligner l'action favorable de la lanovaseline hydratée comme véhicule de la deltahydrocortisone : à dose égale, l'action de l'hormone par voie percutanée a dépassé l'action d'une suspension d'acétate de deltahydrocortisone administrée "per os".

Febvre et coll. (1961) ont etudié la valeur en tant que véhicule des émulsions huile-dans-l'eau, à différents pH (6,7 et 7,4) et d'une émulsion eau-dans-l'huile en utilisant comme principes actifs l'iodure de potassium, le salicylate de sodium, et l'acide salicylique, substances facilement dosables dans l'urine. Pour l'iodure de potassium, la quantité totale recueillie dans les 24 heures est supérieure dans le cas des émulsions eau-dans-l'huile. L'émulsion huile-dans-l'eau à pH acide 6,7 se place en deuxième rang et celle de la même émulsion à pH 7,4 donne les résultats les plus faibles. Avec l'iodure de potassium marqué à ^{131}I les résultats ont eté à peu près les mêmes. L'émulsion huile-dans-l'eau amenée à pH 6,5 permet une absorption supérieure. Pour l'acide salicylique, l'émulsion huile-dans-l'eau à pH acide a une action plus favorable sur l'absorption que les deux autres émulsions, et dans le cas du salicylate

de sodium ce sont encore les émulsions du type eau-dans-l'huile qui ont fourni les meilleurs résultats.

On voit que les données de la littérature sont assez contradictoires dans le domaine qui nous occupe. Cependant il semble que de tous les véhicules étudiés, les émulsions eau-dans-l'huile soient les plus intéressantes parce que la phase externe correspond précisément à la phase lipidique seule capable de pénétrer dans les follicules et les glandes sébacées (d'après Harry, 1941), alors que la phase aqueuse participe à l'humidification de la peau, dont nous avons vu l'importance dans les théories sur la penétration cutanée.

b) Mélanges plus ou moins complexes

En dehors des émulsions classiques décrites précédemment, l'addition de mouillants à des corps gras naturels ou à des émulsions a permis d'augmenter la pénétration de substances actives dans quelques cas, mais n'a pas donné tous les résultats espérés initialement.

L'un des premiers, Duemling (1941), par addition de lauryl sulfate de sodium à la vaseline, a amélioré la pénétration du mercure. Il a étudié diverses substances de type alkyl- et arylsulfate parmi lesquelles la plus active était l'ester dioctylique du sulfosuccinate de sodium (Aérosol O T). Un peu plus tard Laug et coll. (1947) ont comparé la valeur de différentes pommades pour la pénétration du mercure et ont trouve aussi une absorption plus élevée en présence de tensio-actifs.

Sous le nom de "penetrasols" Hermann et coll. (1942) ont introduit des mélanges de xylol, de propylène glycol et d'un mouillant sulfoné (esters dibutylique ou dihexylique de sulfosuccinate de sodium) additionnés d'antipyrine. Avec ces produits McKee et coll. (1945) sont arrivés à faire pénétrer diverses substances au fond des follicules pileux et de là dans le derme.

Pour Shelley et Melton (1947) de tels véhicules aident à l'absorption des substances hydrosolubles, au moins dans les régions riches en follicules pileux. Ces auteurs n'ont pas réussi en 1949 cependant à faire pénétrer l'histamine (base et sels), avec l'addition de mouillants. De même Strakosch et Clark (1943) ne sont pas arrivés à faire pénétrer les sulfamides en présence de mouillants.

Dans un travail déjà signalé, Meyers et coll. (1949) n'ont pu augmenter l'absorption de l'iodure de potassium et de la phénolsulfonéphtaléine par l'addition de tétradécysulfate de sodium (Tergitol) au Carbowax.

L'addition de l'ester laurique du polyéthylène glycol à une huile interestérifiée (terme que nous définirons plus loin) a augmenté la pénétration cutanée de l'iodure de potassium, mais a diminué celle du salicylate de sodium (Febvre et coll. 1961).

Vinson et Chomas (1960)sont arrivés à faire pénétrer le sulfate de nickel à travers la peau du Cobaye par addition de laurylsulfate et de dodécylbenzylsulfate de sodium tandis que le sel seul est incapable de penetrer. Mais ces essais ne sont pas concluants, car la pénétration est favorisée ici par l'action irritante.

En résumé, la présence de mouillants peut augmenter l'absorption à travers la peau dans quelques cas seulement mais il faut toujours craindre l'effet irritant propre à ces substances et ne les utiliser qu'à certaines concentrations.

On peut rattacher aux véhicules complexes ceux qui ont fait l'objet des essais effectués par Valette et ses élèves (1957). Ces auteurs après avoir remarqué les propriétés pénétrantes du paracymène et de l'eucalyptol, ont cherché à incorporer ces liquides dans des émulsions, et des préparations à base de pectine et de lécithine, afin d'obtenir des véhicules à consistance de pommade, mais aucun de ces mélanges ne présentait un pouvoir de pénétration appréciable. Par contre, certains polyéthylènes (de poids moléculaire compris entre 5.000 et 16.000 en particulier "l'Alkathène" (I.C.I.), leur ont permis de réaliser un produit de consistance convenable qui s'est montré très supérieur aux excipients classiques utilisés en dermatologie, dans l'absorption de l'ésérine chez le Rat et du cardiazol chez la Souris (Valette et Huerre 1957). Cette supériorité a été confirmée en partie pour l'absorption de l'hydrocortisone (Valette, Huerre et Zizine, 1958) et surtout pour l'absorption de l'acide salicylique et de la ninhydrine (Huerre 1961).

c) Huiles interestérifiées

Des procédés industriels récemment mis au point permettent de modifier la nature hydrophobe des triglycérides naturels, sans nuire cependant aux qualités intrinsèques de ces corps, notamment leur innocuité et la tolérance qu'ils présentent vis-à-vis des muqueuses.

Ces procédés aboutissent :

- soit à modifier la repartition des acides gras sur les divers restes glycéridiques
- soit à augmenter la quantité relative de glycérol par rapport aux acides gras

- soit à remplacer le glycérol par un autre polyol.

Industriellement, les nouveaux excipients interestérifiés dérivent de la combinaison des deux derniers procédés. Il s'ensuit une modification dans la proportion des mono- ou di- glycérides, par rapport aux triglycérides, donc une augmentation des fractions hydrophiles.

L'hydrophilie de ces produits leur permet d'être dispersés dans l'eau en donnant des émulsions huile-dans-l'eau. L'utilisation de mono- et de di-glycérides a été proposée comme base de véhicules en dermatologie.

De même Hadgraft (1961) a préconisé des acétoglycérides, intéressants par la constance de leur composition et leur absence de rancissement, de la lanoline hydrogénée (point de fusion 50°), et sa combinaison avec l'oxyde d'ethylène (point de fusion 40°), produits cireux stables. Ces derniers produits semblent avantageux par leur stabilite et leur composition definie, mais il nous manque encore la preuve de leur absorption percutanée.

Les huiles interestérifiées elles-mêmes ont donné lieu à une série de recherches qui ont porté tantôt sur l'absorption cutanée, tantôt sur l'absorption par voie sous-cutanée et intramusculaire. Bost (1955) a vu ainsi que l'absorption de l'ésérine injectée par voie sous cutanée dans une huile interestérifiée était plus rapide que dans les huiles pharmaceutiques ordinaires.

Bost et Fargeas en 1958 trouvent qu'une huile estérifiée (définie par Labrafil M.C. 1944) est le meilleur véhicule permettant l'absorption par voie percutanee du benzoate d'oestradiol. Ces auteurs (1960) ont étudié l'absorption du propionate de testostérone en utilisant l'épreuve de la croissance de la crête du poussin apres onction avec des solutions dans l'huile d'olive et dans une huile hydrophile. Pour une dose supérieure à 7 μ g la réponse a été favorable pour l'huile hydrophile. Signalons toutefois que pour le propionate de testostérone appliqué en milieu alcoolique, Munson et Sheps (1958) ont trouvé une réponse vingt fois plus élevée.

Febvre et coll. en 1961, utilisent aussi les huiles hydrophiles pour entraîner par voie percutanee, l'iodure de potassium, l'acide salicylique et le salicylate de sodium. L'huile interestérifiée s'est toujours montrée pénétrante tandis que l'addition d'un mouillant comme l'ester laurique du polyéthylène glycol diminue la pénétration dans le cas du salicylate de sodium et augmente celle de l'iodure de potassium.

Conclusions

De l'ensemble des résultats que nous venons de rapporter se dégage facilement la conclusion qu'aucun des excipients examinés ne se montre capable de favoriser au maximum l'absorption cutanée de tous les medicaments en general.

Les excipients classiques, à base d'huiles et de graisses, se sont montrés capables tout au plus de pénétrer dans la profondeur de l'épiderme et de favoriser l'absorption de certains principes actifs. Mais ces excipients peuvent être avantageusement utilisés dans quelques cas particuliers : ainsi l'axonge pour les iodures, les salicylates, le soufre et les sulfamides ; la lanoline à l'état hydraté, pour la deltahydrocortisone ; les huiles pour les hormones etc...

Les meilleurs vehicules favorisant la pénétration sont les solvants organiques (hydrocarbures, alcools, esters, etc...), les huiles essentielles, mais ces liquides ne sont pas totalement dépourvus d'action irritante et leur consistance liquide rend leur emploi peu pratique. Leur gélification réalisee par l'addition de divers composés diminue les effets irritants mais augmente la viscosité du mélange obtenu ce qui ne peut que rendre moins aisée la pénétration à travers la peau.

Les véhicules complexes (émulsion, mélanges complexes, additionnés de mouillants, huiles interestérifiées) représentent un progrès important du point de vue pharmacologie et thérapeutique.

Toutefois les excipients classiques ne sauraient être délibérément laisses de côté, mais les conditions de leur emploi doivent être précisées à la lumière des données de la pharmacodynamie et compte tenu des différents cas particuliers créés par la nature des principes actifs que l'on veut administrer par la voie percutanée.

-:-

D E U X I E M E P A R T I E

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE I

-:-

ETUDE PHYSIQUE ET CHIMIQUE

-:-

Les huiles végétales et animales sont des produits liquides constitues pour la plus grande partie par des triglycérides d'acides gras. Quelques-uns de ces triglycérides sont homogènes étant estérifiés par le même acide gras, mais la plupart sont des triglycérides mixtes, dans lesquels les acides estérifiant une même molécule de glycéride sont différents. Les acides gras se répartiront alors suivant la règle de Hilditch ou principe de l'hétérogénéité maximale d'après laquelle la présence d'un triglycéride homogène dans une huile requiert une concentration minimale de 67 % d'un même acide gras dans cette huile. Cette règle s'applique bien aux huiles d'animaux marins et aux huiles de graines, mais d'une façon plus inconstante à la plupart des huiles de fruits et des huiles animales. Selon Wolff, les triglycérides sont plus visqueux que les acides gras qui les composent, c'est-à-dire que, pratiquement, les huiles raffinées se montrent plus visqueuses que les huiles brutes.

A - MONOGRAPHIE DES HUILES ETUDIEES

Les huiles végétales que nous avons utilisées dans notre travail peuvent être classées comme il suit, en tenant compte de leur origine :

Huile de mésocarpe de fruit : - olive
- avocat

Huile de graine : - amandon d'olive
- noisette
- colza
- amande douce
- soja
- carthame
- noix
- lin

Huile de germe : - riz
- caroube
- maïs
- blé
- seigle.

Quant aux huiles animales, une distinction peut être faite entre les huiles des animaux marins et les huiles d'autre provenance ; dans notre cas, la seule huile entrant dans cette deuxième catégorie a été l'huile de vison.

Les huiles d'animaux marins que nous avons étudiées peuvent être classées comme suit :

Huile de foie : Morue
Huile de dechet : - viscères de thon

Certaines des huiles qui ont été soumises à nos essais sont bien connues et étudiées. Nous en donnerons une référence sommaire, comportant la description et la valeur de leurs constantes physiques et chimiques, afin d'établir une comparaison entre les constantes trouvées pour les huiles essayées et les valeurs admises. Dans les cas des huiles moins bien connues comme les huiles d'avocat, de vison, de germe de seigle, etc..., il paraissait utile de se livrer à une étude plus détaillée.

HUILES VEGETALES

1) Huile d'OLIVE

Définie par la Pharmacopée française comme l'huile extraite du péricarpe du fruit de l'olivier cultivé (Olea europaea), sa composition varie beaucoup avec la région d'origine. La teneur en acides saturés augmente lorsque l'on se déplace vers le Sud, alors que le climat est plus chaud. Les huiles du Sud tunisien (Gabès, Zorzis) contiennent jusqu'à 25 % d'acides gras saturés ; les huiles du littoral méditerranéen sont beaucoup plus pauvres en acides concrets, parmi lesquels l'acide palmitique est le plus abondant. On a cependant reconnu que certaines variétés d'huiles contiennent de l'acide arachidique, considéré pendant longtemps comme spécifique de l'huile d'arachide. De plus, la composition du mélange des acides éthyléniques est elle-même variable ; si l'acide oléique représente 70 à 80 % des acides gras totaux, l'acide linoléique se trouve lui-même présent en quantités parfois assez importantes, si bien que les huiles de Tunisie atteignent pour une bonne part un indice d'iode qui dépasse très nettement les chiffres actuellement inscrits dans la Pharmacopée.

Nous avons étudié deux échantillons d'huile d'olive, l'un provenant d'un laboratoire producteur (Bertin), l'autre acheté dans le commerce comme huile d'olive de table. La première sera dénommée huile d'olive naturelle dans la suite de notre travail.

Dans la Pharmacopée française, les constantes physiques et chimiques de l'huile d'olive sont les suivantes :

D 20°	0,913 à 0,915
Indice de saponification	188 à 195
Acidité en acide oléique	inférieure à 2 %
Indice d'iode	79 à 84
Matières insaponifiables	inférieure à 1 %

L'huile extraite par pression est de couleur jaune ; elle est transparente et limpide. Elle n'est pas siccative et on lui reconnaît la qualité de ne pas rancir facilement. Parmi les matières insaponifiables, on trouve un phytostérol, du squalène, de la vitamine A.

2) Huile d'AVOCAT

L'Avocatier est un arbre de la famille des Lauracées (Persea americana, Millot ; Persea gratissima, Gaerton) qui croît dans toutes les régions à climat tropical ou subtropical où il est très connu et répandu. Il est rare en France, et les avocats sont considérés comme des fruits exotiques. L'explorateur Martin Fernandez de Enciso le fait connaître en Europe dès 1519, après son voyage en Amérique du Sud, et il écrit : "Ce qu'il a dedans est comme le beurre et il est de saveur délicieuse et laisse le goût si bon que c'est une chose merveilleuse". On trouve une autre référence ancienne avec Gonzalo Fernandez de Oviedo dans le "Sumario de la natural Historia de las Indias" en 1526. Certainement le fruit de l'Avocatier était apprécié par les habitants de l'Amérique du Sud et de l'Amérique Centrale avant l'arrivée des Espagnols. La légende raconte que les indigènes l'utilisaient pour favoriser la croissance des cheveux, tandis que d'autres appliquaient sa pulpe sur leur visage pour le préserver du vent. Dans le domaine culinaire, il a été et est encore d'usage courant.

Comme le fait savoir Schwob (1951) dans son travail, l'étymologie du mot "avocat" dérive de "acacatl" employé par les Aztèques. Des transformations successives de ce terme ont suivi "ahuacatl", "ahuacate", arrivant au nom avocat en français et désigné comme "palta" o "aguacate" en espagnol.

Le fruit de l'avocat ressemble à une grosse poire. Au centre du fruit se trouve sa graine, assez importante, qui n'est pas utilisée dans la fabrication de l'huile. Dans le commerce, on trouve seulement l'huile extraite du mésocarpe.

La qualité et la quantité de cette huile varient beaucoup suivant la provenance. Signalons cependant que, dans la variété spontanée, on peut trouver de 4 à 6 % d'huile, alors que, pour les varietés hawaïennes, on a respectivement signalé 26,7 % pour la variété Nutwag et 22,6 % pour la variété Towse (Station expérimentale d'Hawaï). La proportion d'eau varie entre 58,7 et 82,8 %. L'huile se trouve émulsionnée dans le fruit, ce qui explique qu'elle soit plus digestible.

L'extraction de l'huile s'effectue soit par pression, soit par épuisement au moyen de solvants. La première méthode demande quelques précautions : il faut sécher la pulpe avant la pression. Cette opération doit s'effectuer le plus rapidement possible, car l'exposition à l'air provoque des altérations de l'huile. L'emploi des solvants donne une huile très foncée due à la dissolution de la chlorophylle, ce qui nécessite une décoloration. L'huile ainsi obtenue est une huile épaisse, d'odeur agréable, selon la littérature. Toutefois, nous avons noté une forte odeur d'acide gras qui a persisté dans toutes nos opérations de préparation des esters, de dosage des matières insaponifiables, etc...

Peu de travaux ont été consacrés à cette huile, et les constantes physiques et chimiques données varient beaucoup avec les différents auteurs (Asenjo et coll., 1943 - Schwob, 1951 - Van Laere et coll. 1953).

D 20°	0,908 à 0,921
Indice de saponification	177 à 197
Indice d'iode	65 à 95
Indice d'acide	0,4 à 21
Insaponifiables	1 à 2 %

Le mélange d'acides gras constituant les glycérides se scinde en :

- Acides gras saturés :	- acide myristique	0 à 2,1 %
	- acide palmitique	6,9 à 25,3 %
	- acide stéarique	0 à 0,6 %
- Acides gras éthyléniques :	- acide oléique	62,6 à 77,3 %
	- acide linoléique	6 à 10,8 %
	- acide linoléique	traces

La présence de lécithine a été signalée sans toutefois que la teneur de ce constituant ait été avancée. Les matières insaponifiables contiendraient une certaine quantité de stérols, comprenant en particulier du sitostérol et de l'ergostérol.

Par sa composition chimique, l'huile d'avocat se rapproche de l'huile d'olive, mais son acidité est toujours nettement plus élevée. Cette huile donne des émulsions stables et épaisses.

3) Huile d'AMANDON d'OLIVE

Elle est extraite de l'amandon de l'olive, soit par pression à froid, soit par des solvants. Son etude générale (modalités de préparation, caractéristiques) a été faite par S. Heinrich (1961) à Nancy.

Les constantes physiques et chimiques sont les suivantes:

D 20°	0,915
Indice de saponification	190
Acidité en acide oléique	0,15 %
Indice d'iode	89,9 à 91,1
Matières insaponifiables	1,1 %

Sa composition en acides gras est la suivante :

Acides gras satures	9,6 %
Acide linoléique	10 - 15 %
Acide oléique	70 - 75 %

Ses caractères et sa composition la rendent très proche de l'huile d'olive et de l'huile d'amande douce du Codex.

4) Huile de NOISETTE

Le Noisetier (Corylus avellana L.) appartient à la famille des Bétulacées Corylacées. La noisette renferme une graine exalbuminée à gros cotylédons huileux. Les graines de noisetier contiennent de 50 à 60 % d'huile, laquelle peut être extraite par pression ou par épuisement au moyen de solvants. L'huile, d'odeur agréable, de couleur jaune d'or clair, est d'un goût très fin. Elle est employée surtout dans l'horlogerie. Cette huile a été très peu étudiée, et les références à son sujet sont assez anciennes. On y trouve les caractéristiques physiques et chimiques suivantes :

D 20°	0,914 à 0,920
Indice de saponification	187 à 198
Indice d'iode	83 à 90
Indice d'acide	inférieur à 0,30
Matières insaponifiables	0,30 à 0,50

Selon les recherches de Hanus (cité par Winton 1946), la composition en acides gras de l'huile de noisette est la suivante :

Acide palmitique	9 %
Acide stéarique	1 %
Acide oléique	85 %

Elle contient aussi 0,5 d'un phytostérol. D'autres auteurs donnent les limites suivantes :

Acides saturés	4 à 8 %
Acides éthyléniques (oléique surtout et linoléique)	87 à 91 %

Dans notre travail, nous avons utilisé sept échantillons différents d'huiles. Du premier de ces échantillons, REF 135, nous n'avons pas disposé d'une quantité suffisante pour en faire l'analyse. Cinq autres huiles nous ont été fournies avec l'indice d'iode.

REF N° 136	Indice d'iode	87,2
REF N° 137	Indice d'iode	88,9
REF N° 138	Indice d'iode	85,3
REF N° 139	Indice d'iode	85,1
REF N° 140	Indice d'iode	86,6

Une huile REF N° 141 a été préparée pour nous au laboratoire de Matière Médicale de la Faculté de Pharmacie de Nancy (extraction par l'hexane normal. Ses caractéristiques analytiques seront données dans le tableau I, page

5) Huile de COLZA (Brassica campestris, v.oleifera L., Crucifères)

Les graines de colza contiennent de 38 à 45 % d'huile que l'on peut extraire par pression ou par dissolution au moyen de solvants. A l'état brut, l'huile a une couleur qui varie du jaune au brun verdâtre. L'huile que l'on emploie dans l'alimentation a subi un raffinage qui conduit à un produit de couleur jaune et de saveur et d'odeur faibles.

Les constantes physiques et chimiques de l'huile de colza sont les suivantes :

D 20°	0,913 à 0,916
Indice de saponification	169 à 180
Indice d'iode	94 à 106
Matières insaponifiables	0,5 à 1,5

La composition en acides gras est la suivante :

Acides gras saturés :	- acide palmitique	1 à 3 %
	- acide lignocérique	traces
	- acide brassidique	traces
Acides gras éthyléniques :	- acide oléique	17 à 48 %
	- acide érucique	43 à 51 %
	- acide linoléique	10 à 30 %

6) Huile d'AMANDE DOUCE

Inscrite dans le Codex français et dans presque toutes les Pharmacopées. La Pharmacopée la définit comme suit : "l'huile fournie par les semences d'Amigdalus communis var. Dulcis, Rosacées".

Pour l'obtention d'une huile de bonne qualité, une récolte soigneuse des amandes doit être faite. D'après Bertin (1952), seules les amandes de la dernière récolte de la saison doivent être utilisées. L'huile obtenue avec les amandes de la première récolte en début de saison serait toujours rance et trop acide. Les graines tachées ou avariées doivent être éliminées. Les graines des amandes douces peuvent être débarrassées de leurs téguments par trempage dans de l'eau chaude.

Bien que, dans l'usage courant, l'huile de noyaux soit parfois confondue avec l'huile d'amande douce, nous avons tenu à utiliser dans nos expériences de l'huile préparée réellement avec des amandes douces. Cette huile est inodore, de couleur jaune pâle ou ambrée peu accentuée, de saveur douce. Les échantillons courants rancissent facilement à l'air et leur densité augmente avec le temps. Cependant, lorsque l'huile est obtenue par pression de l'amande à froid sans opérations de raffinage, elle contient tous ses agents conservateurs naturels, ce qui lui confère une excellente stabilité. C'est une huile de faible acidité, qui se conserve alors très bien.

Les constantes indiquées par la Pharmacopée française sont :

D 20°	0,913 à 0,918
Indice de saponification	190 à 194
Acidité en acide oléique	inférieure à 0,5 %
Indice d'iode	92 à 99
Matières insaponifiables	inférieures à 0,50 %

7) Huile de SOJA

(Glycine Soja Sieb. et Zucc., Soja hispida Moench, légumineuse)

Cette huile est extraite par pression, par les solvants habituels ou par l'éthanol sous pression des graines de Soja, où elle se trouve dans la proportion de 12 à 25 %. Le raffinage se pratique habituellement par les procédés classiques de l'huilerie : démucilagination, neutralisation, décoloration, désodorisation. L'huile obtenue finalement est très fluide, de couleur jaune prononcé à ambrée, selon la provenance.

Les caractéristiques physiques et chimiques sont les suivantes :

D 20°	0,922 à 0,925
Indice de saponification	189 à 195
Indice d'iode	103 à 152
Matières insaponifiables	0,5 à 2,2

La composition en acides gras est la suivante :

Acides saturés :	- acide laurique	0 à 0,2 %
	- acide myristique	0,1 à 0,4 %
	- acide palmitique	6,5 à 9,8 %
	- acide stéarique	2,4 à 5,5 %
Acides non saturés :	- acide palmitoléique	0,4 à 1,6 %
	- acide oléique	10,9 à 60,0 %
	- acide linoléique	25,0 à 64,0 %

Il est à remarquer que la teneur en matières insaponifiables est élevée. Elles sont surtout constituées par des stérols. On peut les diviser en deux fractions, la première (55 %) est cristallisée, elle est presqu'entièrement constituée par un phytostérol P.F. 130° lévogyre et monoéthylénique. Un second stérol P.F. 169 doté de deux liaisons éthyléniques voisin du stigmastérol de Windaus accompagne le premier. La fraction liquide oxygénée présente la même teneur en C et H que les phytostérols cristallisés.

L'huile de soja est considérée comme la plus riche en lécithine des huiles végétales.

8) Huile de CARTHAME

Le Carthame appartient à la famille des Composées. Cette plante est surtout répandue aux Indes et dans le Bassin méditerranéen. Il existe deux variétés de Carthame d'où l'on peut extraire l'huile : Carthamus oxyacantha et Carthamus tinctorius L. Alors que l'huile retirée de cette dernière contient surtout de l'acide linoléique, c'est l'acide oléique qui prédomine dans l'autre huile (Chavan, 1961).

Les fruits de Carthame sont des akènes de forme tétraédrique de couleur blanche brillante, avec une enveloppe épaisse qui représente 40 à 60 % du poids total. A l'intérieur se trouvent des graines de couleur gris jaunâtre. On admet qu'il y a généralement de 25 à 35 % de matière grasse dans le fruit entier et environ 50 % dans l'amande. L'extraction de l'huile s'effectue sur la graine décortiquée. On peut l'extraire par les solvants comme le tétrachlorure de carbone ou par pression à froid.

Dans les deux cas, les constantes physiques et chimiques sont les suivantes :

	Par solvants	Par pression
D 20°	0,924	0,920
Indice de saponification	192	190,7
Indice d'iode	136	159,5
Matières insaponifiables	1,3	0,02

C'est une huile de couleur jaune claire quand elle est extraite à froid. Celle qui nous a été fournie était incolore.

La composition en acides gras est la suivante :

Acides gras saturés :	- acide myristique	1,5 %
	- acide laurique et homologues	traces
	- acide palmitique	3 %
	- acide stéarique	1 %
Acides gras non saturés :	- acide oléique	33 %
	- acide linoléique	61 %

Cette huile peut être utilisée dans l'alimentation après raffinage. C'est alors une huile limpide, de couleur claire, sans odeur, mais de saveur forte, tenace, assez peu agréable. Son emploi est courant en peinture. Elle présente l'avantage de ne pas jaunir en vieillissant.

9) Huile de NOIX

Cette huile est extraite des graines de Noyer (Juglans regia L., Juglandacées) dont la teneur en lipides atteint 50 à 70 %. L'huile extraite par pression à froid est fluide, de couleur jaune claire, de saveur et d'odeur très agréables.

Par une seconde pression, on obtient une huile brune utilisée dans l'industrie. La première est très appréciée pour les usages culinaires, la deuxième en peinture.

Les caractères analytiques sont les suivants :

D 20°	0,922 à 0,924
Indice de saponification	186 à 198
Indice d'iode	132 à 162
Matières insaponifiables	0,5 à 1,7

Acides saturés :	- acide palmitique	3,4 à 5 %
	- acide stéarique	traces
Acides non saturés :	- acide oléique	17,6 %
	- acide linoléique	72,8 %

10) Huile de LIN

Cette huile obtenue à partir des graines de lin (Linum usitatissimum L, famille Linacées) est extraite surtout par pression à froid pour l'huile alimentaire (Russie, Pologne) et l'huile la plus estimée des utilisateurs industriels. L'huile obtenue par épuisement au moyen de solvants volatils est considérée comme de second choix. On obtient une huile jaunâtre, trouble du fait de la presence de mucilages, qui doivent être soigneusement éliminés.

Cette huile est employée surtout dans l'industrie des peintures et vernis et pour la fabrication de savons mous.

Les constantes sont les suivantes :

D 20°	0,931 à 0,936
Indice de saponification	180 à 195
Indice d'iode	173 à 205
Matières insaponifiables	- à 1,75 %

On a souvent signalé la présence d'acide éléostéarique dans l'huile de lin ; les deux chromatographies que nous avons établies en phase gazeuse paraissent indiquer l'absence de ce constituant.

HUILES DE GERMES

1) Huile de Germe de RIZ

(Oriza sativa L., Graminées). Les recherches antérieures semblent avoir été pratiquées sur l'huile de son de riz qui contient de 8 à 10 % de matières grasses. Après extraction par solvants ou par pression, on obtient une huile de couleur ambrée très foncée. L'huile diffère notablement de composition selon l'origine et on peut même avoir une matière grasse solide à 20°. L'huile augmente d'acidité rapidement, en raison de l'action d'une lipase présente en grande quantité.

Les constantes données pour cette huile sont les suivantes:

D 20°	0,890 à 0,927
Indice de saponification	170 à 193
Indice d'iode	91 à 107
N° d'acide	11,9 à 122
Matières insaponifiables	0,7 à 4,2 %

La composition en acides gras est la suivante :

Acides saturés :	- acide palmitique	12,3 à 20 %
	- acide stéarique	- à 1,8 %
Acides non saturés :	- acide oléique	41,0 à 47 %
	- acide linoléique	30,0 à 35 %

Dans les matières insaponifiables on trouve des alcools aliphatiques à haut poids moléculaire, des phytostérols, et un hydrocarbure saturé. L'huile est riche en lécithines.

2) Huile de Germe de CAROUBE

Le Caroubier (Ceratonia siliqua,L.) appartient à la famille des Papilionacées. Dès la plus haute antiquité, l'arbre est très connu et ses fruits sont utilises. Mais la fabrication de l'huile de germe est assez récente et son utilisation est jusqu'à présent réservée au domaine de la cosmétologie.

L'huile est extraite au moyen de l'hexane à 50°. On ne trouve pas de documentation très abondante sur cette huile dans la littérature, si ce n'est le travail de Vervelde (1954) qui la décrit comme une huile de couleur mordorée, de faible acidité, comparable aux huiles de germe de blé, de maïs, etc..., donnant des émulsions plus stables.

Les constantes physiques et chimiques et la composition en acides gras données par cet auteur sont les suivantes :

D 20°	0,914
Indice de saponification	187
Indice d'iode	112
Lécithine	60 mg au g
Tocophérol	2,6 mg au g
Acide linoléique	47 %
Caroténoïdes	0,12 %

De plus, dans des analyses quantitatives, les expériences montrent qu'il y aurait aussi de la vitamine K, de la provitamine D et des oestrogènes. Le tocophérol est constitué par un mélange des quatre isomères $\alpha, \beta, \gamma, \Delta$.

3) Huile de Germe de MAÏS

(Zea maïs L., Graminées). La matière grasse se trouve presqu'entièrement dans le germe, bien que le grain lui-même en possède une faible quantité.

On effectue le dégermage du maïs par voie humide ou par voie sèche et on peut obtenir l'huile par pression ou par solvants. L'huile brute est une huile de couleur brun rougeâtre qui, pour l'usage alimentaire, subit généralement un raffinage.

D'après les travaux de Vieux (1959) et d'autres auteurs, on admet pour l'huile de maïs les caractères analytiques et la composition chimique moyenne ci-apres :

D 20°	0,920 à 0,926
Indice de saponification	188 à 193
Indice d'iode	111 à 125
Matières insaponifiables	1,5 à 2,5

Acides gras saturés :	- acide palmitique	7,7 à 9 %
	- acide stéarique	3,5 à 3,61
	- acide lignocérique	traces
Acides gras non saturés :	- acide oléique	40 à 45 %
	- acide linoléique	40 à 45 %
	- acide arachidonique	traces

Une grande importance a été donnée aux phosphatides et aux matières insaponifiables de l'huile de germe de maïs, à tel point que lorsqu'on parle des lécithines végétales, on évoque aussi le soja et le maïs.

Les matieres insaponifiables renferment un stérol de P.F. 137°, que Hopkins avait appelé cholestérol et que Gill et Tufes (cités par Winton 1946) ont démontre être un sitostérol.

Les recherches d'Anderson et Shriner (1926) montrent que la substance cristallisée était composée d'un dihydrositostérol, une petite quantité de stigmastérol et un mélange correspondant au sitostérol sous la forme α, β, γ. Seule la forme γ a été séparée à l'état pur, caractérisée par un point de fusion de 145° à 146°.

On a signalé dans l'huile de maïs la présence de toutes les vitamines liposolubles.

4) Huile de Germe de BLE

(Triticum sativum L., Graminées). Le germe de blé contient de 12 à 18 % de matière grasse extractible au moyen de solvants. Toutefois, l'huile qui nous a été fournie avait été préparée par pression. Jumelle (1921) signale que l'huile de germe de blé est déjà épaisse à 15° et demi-solide à 0°.

De couleur jaune foncé ou orange, les constantes de cette huile peuvent osciller entre les valeurs suivantes :

D 20°	0,929 à 0,937
Indice de saponification	187 à 190
Indice d'iode	115 à 132
Matières insaponifiables	4,5 %

La composition chimique moyenne en acides gras :

Acides gras saturés :	- acide palmitique	12 à 15 %
	- acide stéarique	2,4 %
Acides gras non saturés :	- acide oléique	20 à 30 %
	- acide linoléique	50 à 70 %

Les matières insaponifiables renferment de 350 à 450 mg de vitamine B (Janicki et coll., 1958 et Rutkowsky, 1960).

Cette huile est la plus riche en lécithine des huiles végétales examinées par nos soins. Nous en avons enlevé une grande quantité par lavage avec de l'eau chaude et séparation par centrifugation.

5) Huile de Germe de SEIGLE

(Secale cereale L., Graminées). On trouve environ 10 % de matière grasse dans le germe de seigle. C'est une huile de couleur jaune foncé, d'odeur spéciale forte et de saveur piquante.

On admet pour l'huile de germe de seigle les caractères analytiques et la composition chimique moyenne suivante :

D 20°	0,915 à 0,941
Indice de saponification	171 à 187
Indice d'iode	103 à 147
Matières insaponifiables	6 à 11 %

Acides gras saturés :	- acide myristique	- à 2,3 %
	- acide palmitique	8 à 11 %
	- acide stearique	- à 0,18 %

Acides gras non saturés :	- acide oléique	31,9 %
	- acide linoléique	44,1 %
	- acide linoléique	4,9 %

Les matières insaponifiables sont comparables à celles de l'huile de germe de blé. La proportion de tocophérol oscille entre 341 et 402 mg % (Rutkowsky, 1960).

HUILES ANIMALES

1) Huile de Foie de MORUE

L'huile de foie de morue est l'huile de poisson la plus étudiée. La Pharmacopée française la définit comme l'huile retirée du foie frais de la morue (Gadus morrhua) par chauffage modéré à la vapeur. Le Codex de 1937 étend cette définition aux huiles extraites d'autres espèces de Galidés. L'huile de foie de morue a été inscrite pour la première fois dans la Pharmacopée en 1866 et elle est sans doute, avec l'huile d'amande, la plus employée pour les soins cutanés. On soumet l'huile brute à une cristallisation fractionnée, désignée sous le nom de démargarisation, pour éliminer les matières grasses figeables (stéarine de poisson).

L'huile obtenue est de couleur jaune pâle, d'odeur et de saveur caractéristiques. Elle est siccative, mais moins que les huiles végétales ayant un indice d'iode analogue.

La Pharmacopée française en donne les caractéristiques suivantes :

D 20°	0,918 à 0,923
Indice de saponification	180 à 188
Indice d'iode	156 à 175
Matières insaponifiables	inférieures à 1 %

Une augmentation des matières insaponifiables est le signe d'une falsification possible avec des huiles de squales.

La composition chimique de l'huile de foie de morue présente quelques variations selon l'origine.

On y trouve :

- des acides gras saturés : - acide pyristique
  - acide palmitique
  - acide stéarique

- des acides gras éthylénique possédant une seule double liaison : - acide palmitoléique
  - acide oléique
  - acide gadoléique
  - acide érucique

On a signalé aussi la presence d'acides gras fortement non saturés : - acide thérapique
- acide arachidonique
- acide clupanodonique

2) Huile de THON

La fabrication des huiles de thon (Thunnus thynnus) (huile de foie et huile de déchets) n'est pas aussi active que celle de l'huile de foie de morue.

Les renseignements concernant les huiles de poissons (déchets et foies) ont été rassemblées en 1923 par Em. André qui attirait l'attention sur la présence d'acides pentaéthyléniques (série de l'ac. clupanodonique) responsables de l'odeur caractéristique de ces produits. Les savants japonais Ueno et Takase (1937) (cité par Sabetay), spécialisés dans les études concernant ces sous-produits de la pêche maritime, particulièrement active dans leur pays, ont isolé des glycérides de l'huile de thon un acide gras de formule $C_{24}H_{38}O_2$, d'indice d'iode 342,9 porteur de cinq liaisons éthyléniques.

Plus récemment Cheftel et coll. (1955) après isomérisation des acides gras issus de l'hydrolyse de l'huile de sardine (2 échantillons) et examen spectrophotométrique ont établi la composition moyenne de ses glycérides :

acides saturés	16 %
" oléique	48 %
" linoléique	5-6 %
" triénique	2 %
" tétraénique	4-6 %
" pentaénique	15-16 %
" hexaénique	10 %

Ces renseignements concordent pour affirmer la nature spéciale des acides gras des huiles de poisson et leur richesse en acides polyéthyléniques. Cette circonstance nous engageait à leur consacrer une part de notre étude.

Nous nous sommes procuré auprès des Etablissements F.A.P.A de St-Jean de Luz une huile de thon qui provenait en réalité du traitement d'un mélange de déchets de thon et de sardine.

Cette huile a été neutralisée et décolorée par nous au moyen de soude et de charbon animal, ce qui nous a donné une huile de couleur ambrée mais présentant encore une odeur forte.

Les caractéristiques physiques et chimiques en sont données dans le tableau n°1.

3) Huile de VISON

Le vison est un animal amphibie qui appartient au groupe des Mustelidés. Sa renommée résulte surtout de l'usage que l'on fait de sa fourrure. Le vison femelle pèse à peu près la moitié du mâle, lequel oscille autour de 2,400 kg. Dans l'industrie du vison, on a remarqué que les ouvriers qui manipulent la peau de vison ou qui sont en contact avec la graisse des animaux ont la peau des mains douce, et cette observation n'a pas manqué d'attirer l'attention des cosmétologues et industriels.

La couche adipeuse sous-cutanee du vison se présente sous forme d'une masse blanchâtre, dont l'odeur de fauve est très prononcée. La graisse de vison a un point de fusion de 18°, ce qui est rare pour une graisse animale ; elle approche du point de fusion de la graisse humaine (17°5). Cette graisse, fondue, séparée des débris conjonctifs, filtrée, désodorisée, donne une huile fluide à 18°.

Le travail le plus ancien sur cette huile date de 1935 ; il a été effectué par Lote, en Allemagne. Celui-ci a déterminé les caractéristiques de l'huile de vison. En 1955, Cross donne les constantes de cette huile et signale que son emploi n'irrite pas la peau. En 1957, le même auteur, en collaboration avec Ehrlich, précise la composition en acides gras. Avec la technique de la chromatographie en phase gazeuse, tout récemment, Prévot et Cabeza (1962) ont donné la composition en acides gras, qui est voisine de celle indiquée par Cross et Erhlich, bien que les échantillons soient de provenance variable.

Analyse de Cross et Erhlich

- acide myristique ..... 4,8 %
- acide palmitique ..... 12,2 %
- acide stéarique ..... 9,1 %
- acide oléique ..... 31,1 %
- acide linoléique ..... 12,3 %
- acide hexadécénoique 22,3 %
- a.octatétraénoique ..... 2,3 %

Analyse de Prévot et Cabeza

- acide laurique ..... 0,2 %
- acide myristique ..... 5 %
- acide pentadécenoique ... traces
- acide palmitique ..... 24,6 %
- acide heptadécenoique 17,0 %
- acide stéarique ..... 4,9 %
- acide oléique ..... 39,0 %
- acide linoléique ..... 0,2 %
- acide gadoléique ..... traces
- acide arachidonique ..... 2,1 %

B - DETERMINATION DES CONSTANTES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

Avant de donner l'exposé de nos travaux personnels, nous indiquerons la provenance des différents échantillons employés dans l'essai pharmacodynamique.

Les échantillons d'huile d'olive naturelle, d'huile d'amande douce, d'huile de noisette Ref. 135, 136, 137, 138, 139, 140, d'huile de lin, ont été envoyés par les Etablissements Bertin (Paris).

Les huiles d'avocat, de germe de caroube, de germe de maïs, de germe de blé Réf. 172 et 173, de germe de seigle, de germe de riz, de carthame, de vison, comme le linoléate d'éthyle, l'oléate d'éthyle (British Pharmacopea), le palmitate d'isopropyle, le myristate d'éthyle, nous ont été fournis par les Etablissements Lasserson et Sabetay (Paris).

L'huile de thon et de sardine a été remise par la F.A.P.A., de Saint-Jean-de-Luz (Basses-Pyrénées).

Les huiles de colza, d'amandon d'olive, de soja, de noix, de foie de morue, proviennent des collections du laboratoire de Matière Médicale de la Faculté de Pharmacie de Nancy ; comme les esters éthyliques des acides laurique et myristique.

Les huiles de noisette Réf. 141, comme les esters éthyliques totaux des huiles et l'isolement de matières insaponifiables, ont été préparés pour nous, à Nancy, au laboratoire de Matière Médicale de la Faculté de Pharmacie.

Références des méthodes d'analyse des huiles

La description des techniques employées est consignée dans la publication suivante : "Méthodes unifiées pour l'analyse des matières grasses", 4e Edition 1954, Socuété d'Edition de l'Enseignement Supérieur, 5, Place de la Sorbonne, Paris :

Indice de saponification (page 48)

Indice d'iode (page 48)

Dosage des matières insaponifiables (page 30)
(Méthode à l'éther de pétrole)

Les essais de détermination de masse spécifique et d'indice d'acide ont été faits suivant les déterminations de l'Association Française de Normalisation :

Masse spécifique	Norme française	T 60 - 214
Indice d'acide	Norme française	T 60 - 204

Dans le dosage de l'huile de germe de seigle, la teneur en matières insaponifiables étant anormalement élevée, nous avons tenu à vérifier la saponification totale de la prise d'essai. L'"insaponifié" a été soumis à une deuxième saponification avec une solution de potasse N/2 dans l'alcool butylique, le chauffage se faisant dans un bain d'huile de colza. Cet essai était accompagné d'un autre essai à blanc. On a constaté que cette opération n'a pas libéré de nouvelles quantités d'acides gras. Nous pouvons dès lors penser qu'il s'agit bien de matières insaponifiables.

Viscosité

Nous avons utilisé le Viscosimètre de Beaumé Vigneron.

Principe - On mesure le temps mis par l'huile pour s'écouler entre deux repères d'une pipette étalonnée ou tube viscosimétrique, dans des conditions de température fixes et connues.

Appareil - Le tube viscosimétrique est une pipette dont la partie inférieure est constituee par un tube capillaire de diamètre constant. Il porte trois reperes, l'un à la partie inférieure du capillaire, les deux autres à la base et au sommet de la boule réservoir.

Le tube viscosimétrique est plongé dans un tube à essai contenant de l'huile à examiner et maintenu à l'aide d'un bouchon

de caoutchouc, de telle façon que le niveau d'affleurement corresponde au repère inférieur. Un thermomètre plonge également dans l'huile, à travers un petit tube de verre en communication avec une poire de caoutchouc qui permet d'exercer une surpression et de faire ainsi monter l'huile dans le tube viscosimétrique.

L'ensemble est placé dans une jaquette thermostatique à tubulure latérale surmontée d'un réfrigérant et dont la partie inférieure renflée en ballon permet de faire bouillir un liquide pur de point d'ébullition connu. On peut ainsi opérer à température rigoureusement fixe.

Nous avons opéré à température de 35°, point d'ébullition de l'éther sulfurique (soigneusement séché et rectifié).

Un nettoyage rigoureux du tube à essai et surtout de la pipette viscosimétrique était effectue avant chaque opération : dégraissage au mélange sulfochromique, lavages à l'eau distillée et rinçages à l'acétone, puis à l'oxyde d'éthyle.

Mode opératoire - Après montage de l'appareil et vérification de la verticalité de la pipette et du niveau de l'huile dans le tube, on contrôle la constante de la température pendant une demi-heure au moins, avant d'effectuer toute mesure. Lors de celle-ci, on fait monter par pression l'huile dans le tube viscosimétrique et jusqu'au repère supérieur placé au-dessus de la boule, on interrompt la surpression. On note le temps qui s'écoule entre le passage du ménisque à la hauteur de chacun des deux repères supérieurs.

La mesure est renouvelée au moins cinq fois, à cinq minutes d'intervalle.

(Dans les huiles très riches en lécithine, moins visqueuses, retenant facilement l'air, il est nécessaire d'atteindre l'élimination des bulles afin d'éviter les erreurs).

La viscosité est exprimée en centistokes (sous-multiple de l'unité de viscosité absolue cinématique) :

V (centistokes) = k. t. 100
t = temps d'écoulement en secondes
k = constante du tube viscosimétrique indiquée par un bulletin d'étalonnage, contrôlée par le Conservatoire National des Arts et Métiers et livrée avec chaque tube.

Les résultats des mesures physiques et chimiques sont contenus dans le tableau n°1, page

TABLEAU N°1

HUILES	INDICE D'ACIDE	DENSITE 20°	VISCOSITE 35°	INDICE d'IODE	INDICE DE SAPONIFICATION	MATIERE INSAPONIFIABLE
d'olive naturelle	1,9	0,916	44,91	83	185	- 0,5 %
d'avocat	28	0,919	49,49	81	180	1,9 %
d'amandon d'olive	0,6	0,915	41,91	91	190	1,1 %
de noisette REF.141	## 0	0,913	38,63	93	187	- 0,5 %
de colza	0,5	0,911	49,9	94	177	1,5 %
d'amande douce	0,6	0,913	40,91	95	190	0,8 %
de soja	2,5	0,948	26,94	126	189	1,8 %
de carthame	0,5	0,924	30,43	137	190	0,8 %
de noix	0,5	0,924	29,44	151	191	1,5 %
de lin	0,95	0,924	29,94	170	199	- 0,5 %
de germe de riz	45	0,927	45,89	104	183	11 %
de germe de caroube	5,8	0,924	39,9	114	190	3,9 %
" " maïs	## 0	0,922	36,81	126	186	2,4 %
" " blé REF 172	## 0	0,929	-	125	189	-
" " blé REF 173	0,5	0,925	40,9	139	190	3,8 %
" " seigle	20,9	0,918	29,94	137	187	8 %
" " vison	2,5	0,915	39,91	82	195	1,9 %
de foie de morue	## 0	0,926	36,92	162	180	2,4 %
de thon	4,5	0,927	32,72	129	180	4,2 %

CONSTANTES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DES HUILES ESSAYEES

C - PREPARATION DES ESTERS ETHYLIQUES

La méthode la plus rapide pour l'obtention des esters éthyliques est l'alcoolyse de l'huile. Elle s'effectue en milieu alcalin pour les huiles neutres ou à faible indice d'acide en utilisant une solution à 2 % de potasse dans l'alcool absolu. Dans ce cas, il suffit d'une heure de chauffage au bain-marie sous reflux pour obtenir une phase unique révélant une parfaite estérification des acides gras.

Tout autre a été le problème des huiles acides. Nous avons effectué l'alcoolyse dans une solution d'alcool absolu avec 2 % d'acide chlorhydrique concentré. L'estérification s'est prolongée pendant plusieurs jours, sans toutefois arriver à une phase homogène. Nous avons dû séparer la partie non esterifiée, la saponifier par la potasse, puis opérer la décomposition des savons en milieu acide, les acides gras libérés et séchés sont alors directement combinés à l'éthanol.

Dans les deux cas, nous avons verse la solution alcoolique des esters dans une ampoule contenant de l'eau salée. Les esters se sont séparés en une couche supérieure ; ils ont été lavés avec de l'eau acidulée ou de l'eau bicarbonatée, suivant le cas, pour neutraliser, puis avec de l'eau distillée pure jusqu'à parfaite neutralité. Dans la plupart des cas, il se forme des émulsions difficiles à détruire, mais qu'il est essentiel de résoudre, car elles englobent une petite quantité d'esters.

Les esters sont séchés sur du sulfate de sodium anhydre, puis distillés sous pression réduite dans un courant d'azote. Mais, pour les esters destinés à la chromatographie en phase gazeuse, nous avons arrêté la distillation avant d'avoir éliminé tout le solvant. Dans ces conditions, les esters d'acides gras de bas poids moléculaire ne sont pas entraînés.

D - CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

La chromatographie en phase gazeuse a été pratiquée dans un appareil D.A.M., à la température de 218°, sur des colonnes D E G S avec un debit d'hydrogène variant de 4,5 à 6,5 litres d'hydrogène par heure et une vitesse de deplacement linéaire du diagramme de 12 mm par minute.

L'évaluation des quantités des divers esters entraînés est obtenue par mesure de la surface des pics.

La chromatographie en phase gazeuse a été appliquée aux huiles de lin, d'olive naturelle, d'amande, de noisette REF 141,

d'avocat, de germe de seigle, de germe de caroube, de vison et à un ester éthylique, le linoléate d'éthyle.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau n°2, page . Les chromatogrammes figurent dans les pages suivantes.

E - INTERPRETATION DES RESULTATS DE L'ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE

D'une façon générale, les chiffres obtenus cadrent avec les valeurs moyennes connues. Nous allons noter seulement les résultats qui dépassent la normale.

1) Indice d'acidité - Trois des huiles étudiées présentent un indice d'acidité supérieur à 20 : par ordre croissant, huile de germe de seigle, huile d'avocat, huile de germe de riz.

La grande acidité de l'huile d'avocat nous a étonné. Nous avons cherché à en préciser la nature par l'essai suivant : l'huile est mise en contact avec de l'eau distillée pendant 24 heures, avec agitations répétées ; le pH de l'eau, mesuré avant et après l'opération, a montré un changement de pH 6,3 à pH 3,9. Nous avons supposé que cette huile pouvait renfermer des acides gras à courte chaîne carbonée susceptibles de passer dans l'eau. La chromatographie en phase gazeuse nous a révélé seulement des traces de ces acides, car les opérations préliminaire éliminent une partie de ceux-ci.

Les indices élevés des huiles de germe de seigle et de riz nous paraissent difficilement explicables, car les autres huiles de germe ont des indices normaux.

2) Poids spécifique - Seule la densité de l'huile de soja dépasse le chiffre donné dans la littérature. Nous avons vérifié que cette anomalie n'est pas due à des traces de solvant retenues par l'huile.

3) Viscosité et indice d'iode - Il existe une relation bien connue entre la viscosité et l'indice d'iode. D'une façon générale, la première s'abaisse à mesure que le second augmente. D'autres éléments peuvent modifier la viscosité (arrangement des acides gras dans les glycérides, présence de lécithine, insaponifiable).

4) Matière insaponifiable - La proportion des matières insaponifiables est particulièrement elevée dans les huiles de germe de seigle et de riz, comme aussi dans l'huile de foie de morue.

L'huile d'olive répond aux exigences du Codex.

5) Chromatographie en phase gazeuse - Dans le cas des huiles à indice d'iode relativement bas (olive, amande douce, noisette et avocat), la chromatographie en phase gazeuse montre que l'huile de noisette est la plus pauvre en acides gras saturés et particulièrement en acide stéarique ; on y note aussi la présence de traces d'un acide gras non identifié. L'huile d'avocat est très riche en acide palmitique, mais on n'y trouve pas d'acide stéarique.

Dans le cas de l'huile de vison, on remarque la haute proportion d'acide palmitoléique.

Nous discuterons plus en détails, à la fin de l'étude pharmacodynamique, le retentissement possible des propriétés physico-chimiques sur la pénétration percutanée.

-:-

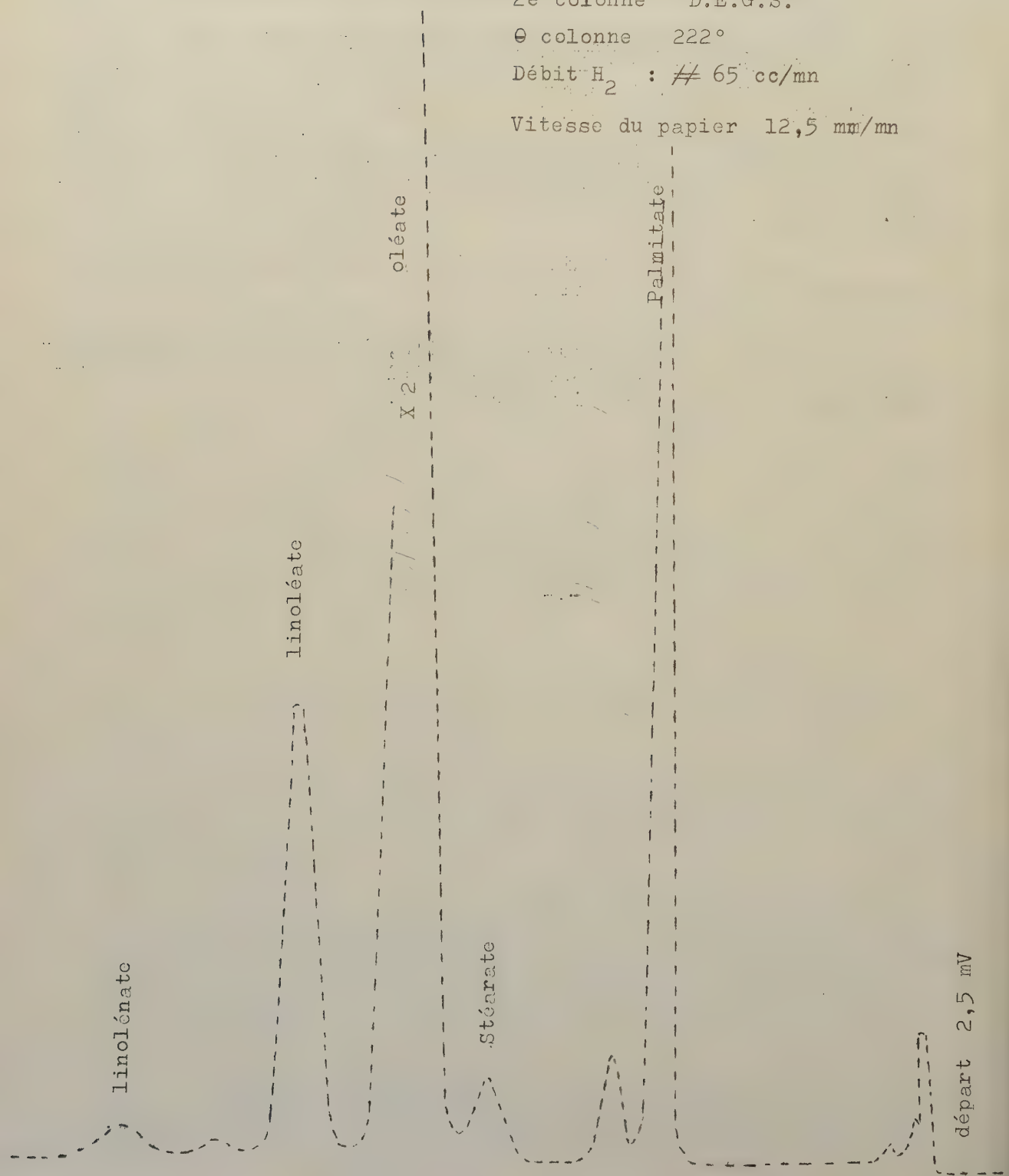
Ech. : Esters éthyliques
Huile d'Olive

2e colonne D.E.G.S.

θ colonne 222°

Débit H_2 : ≠ 65 cc/mn

Vitesse du papier 12,5 mm/mn



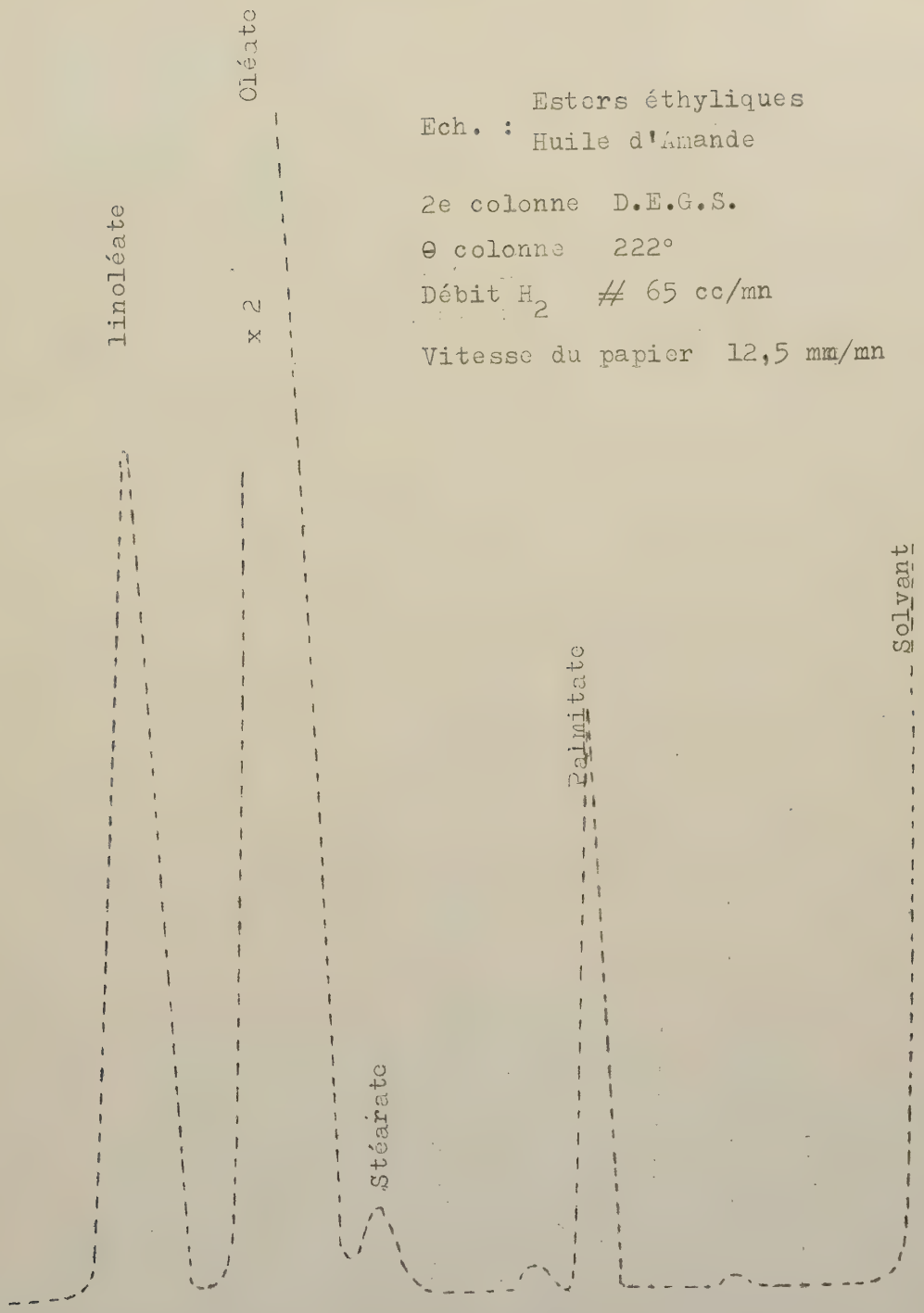
Ech. : Esters éthyliques
Huile d'Amande

2e colonne D.E.G.S.

θ colonne 222°

Débit H_2 # 65 cc/mn

Vitesse du papier 12,5 mm/mn



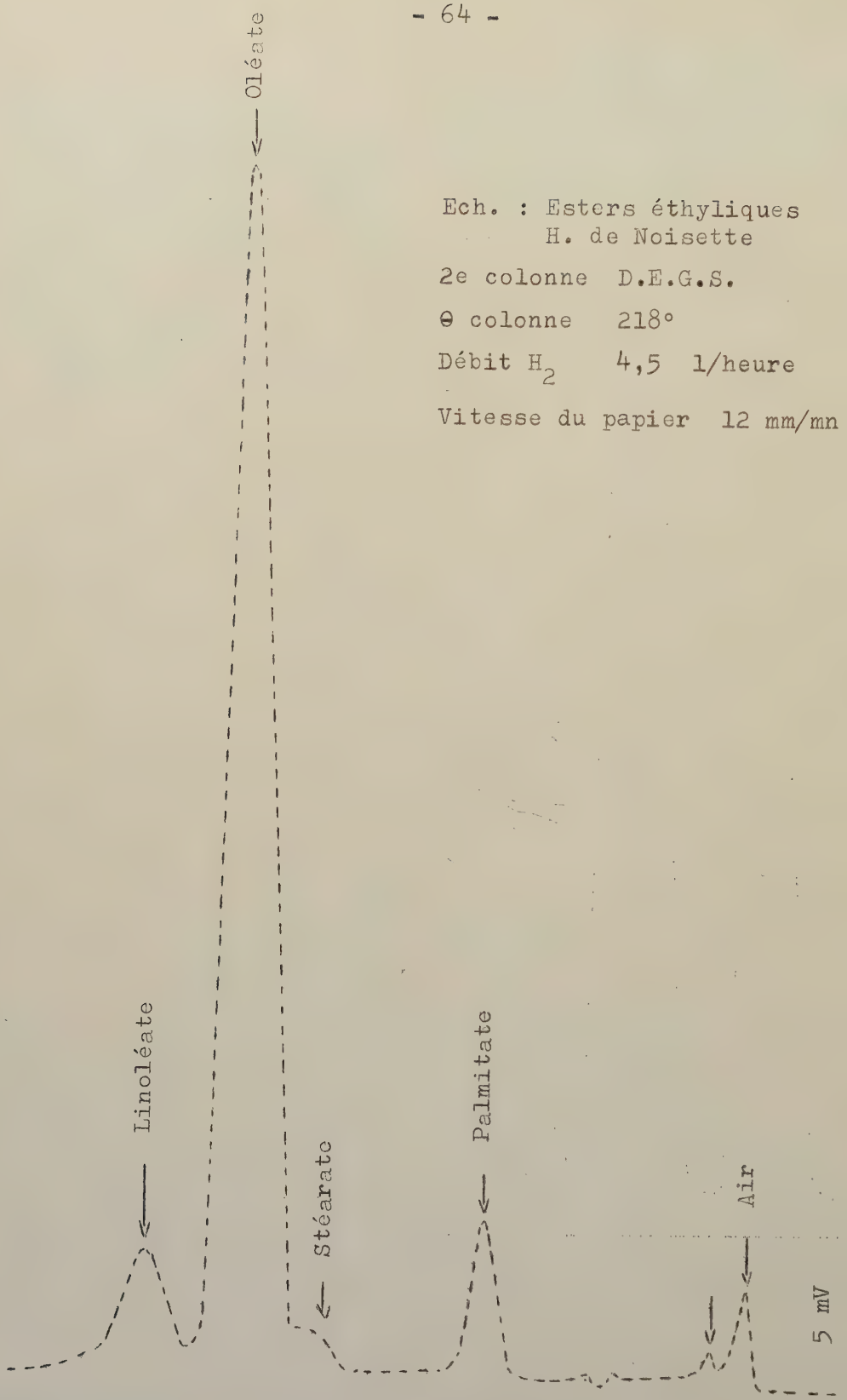
Ech. : Esters éthyliques
H. de Noisette

2e colonne D.E.G.S.

θ colonne 218°

Débit H_2 4,5 l/heure

Vitesse du papier 12 mm/mn



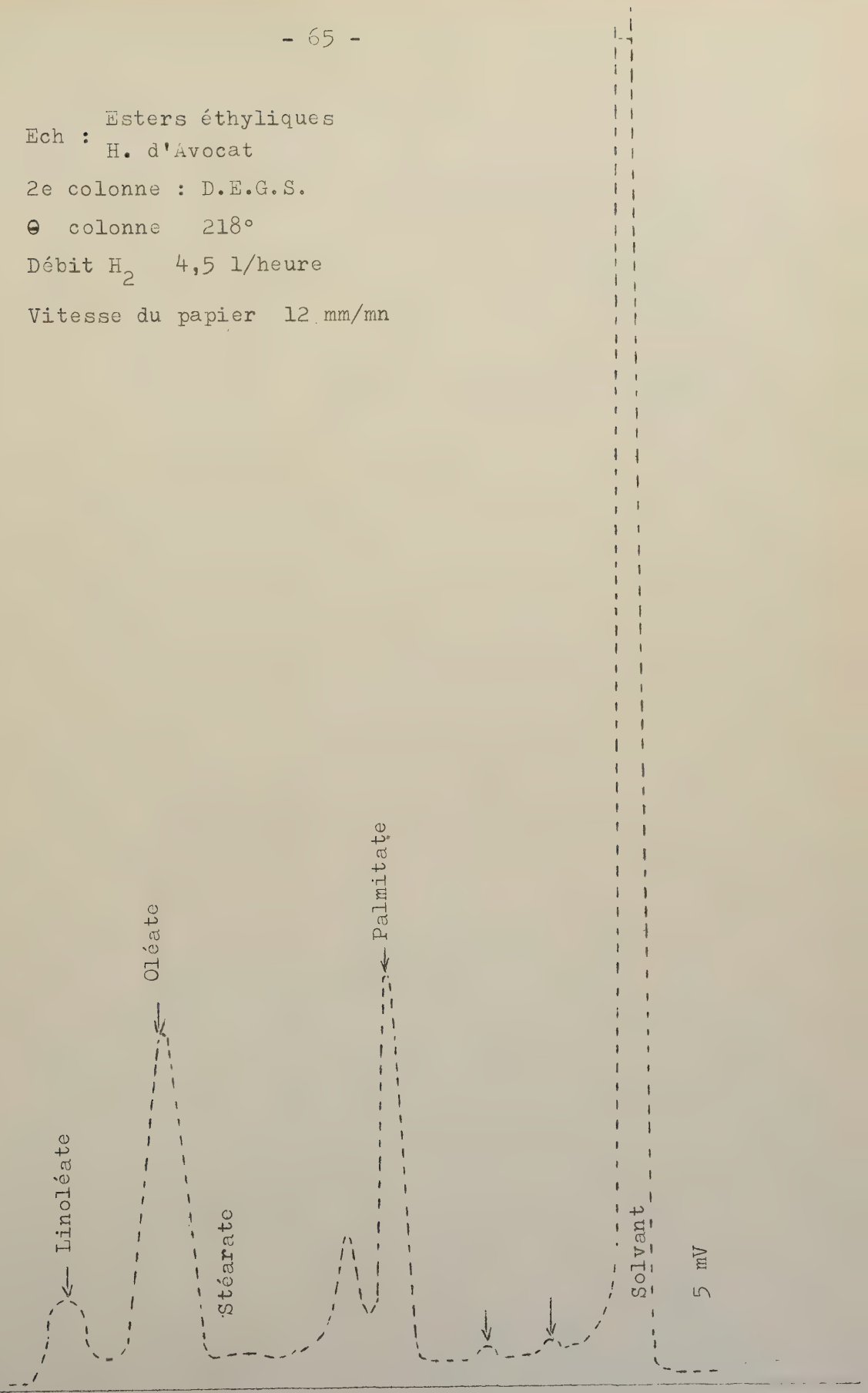
Ech : Esters éthyliques
H. d'Avocat

2e colonne : D.E.G.S.

Θ colonne 218°

Débit H_2 4,5 l/heure

Vitesse du papier 12 mm/mn



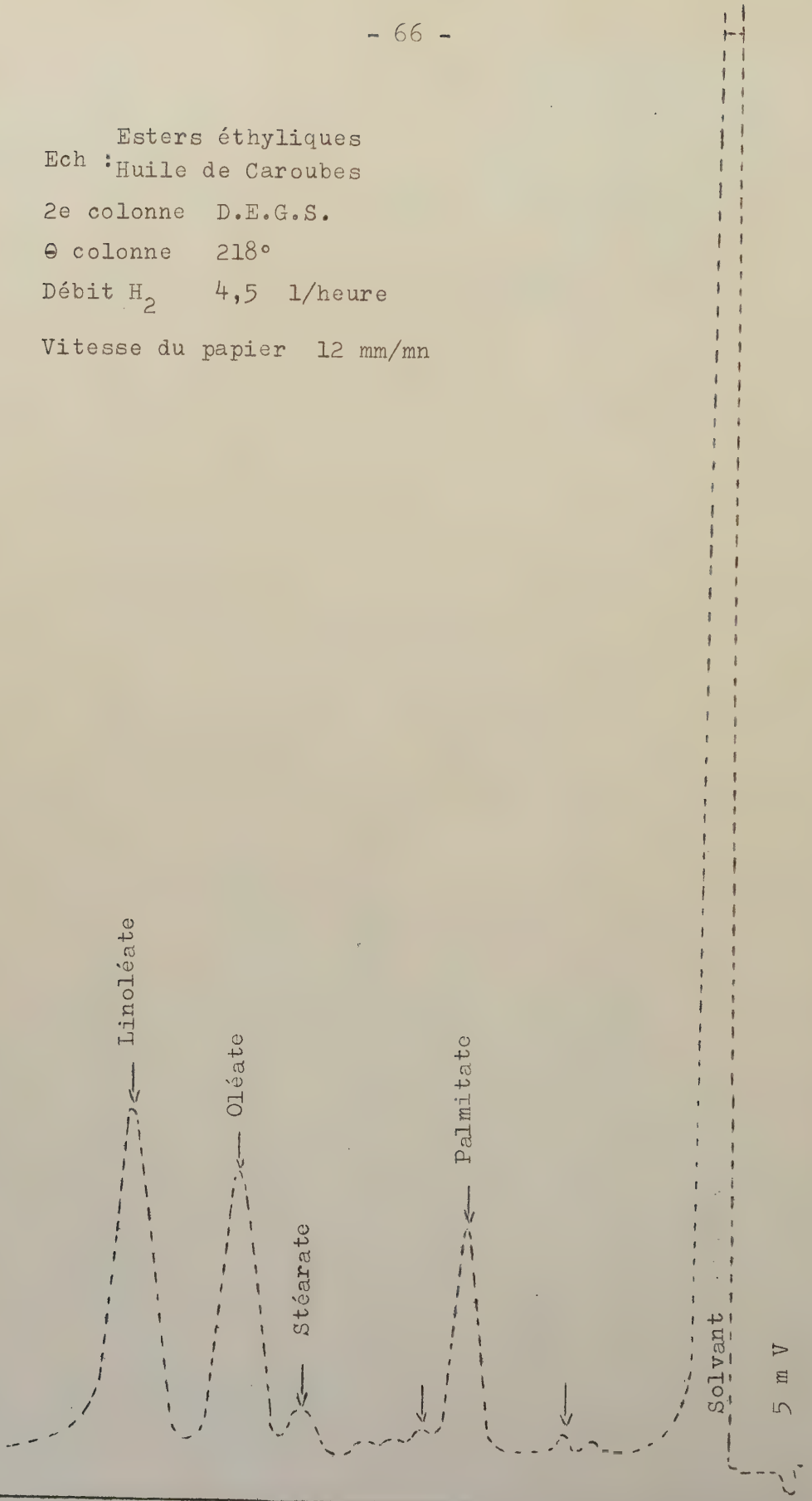
Ech : Esters éthyliques
Huile de Caroubes

2e colonne D.E.G.S.

Θ colonne 218°

Débit H_2 4,5 l/heure

Vitesse du papier 12 mm/mn



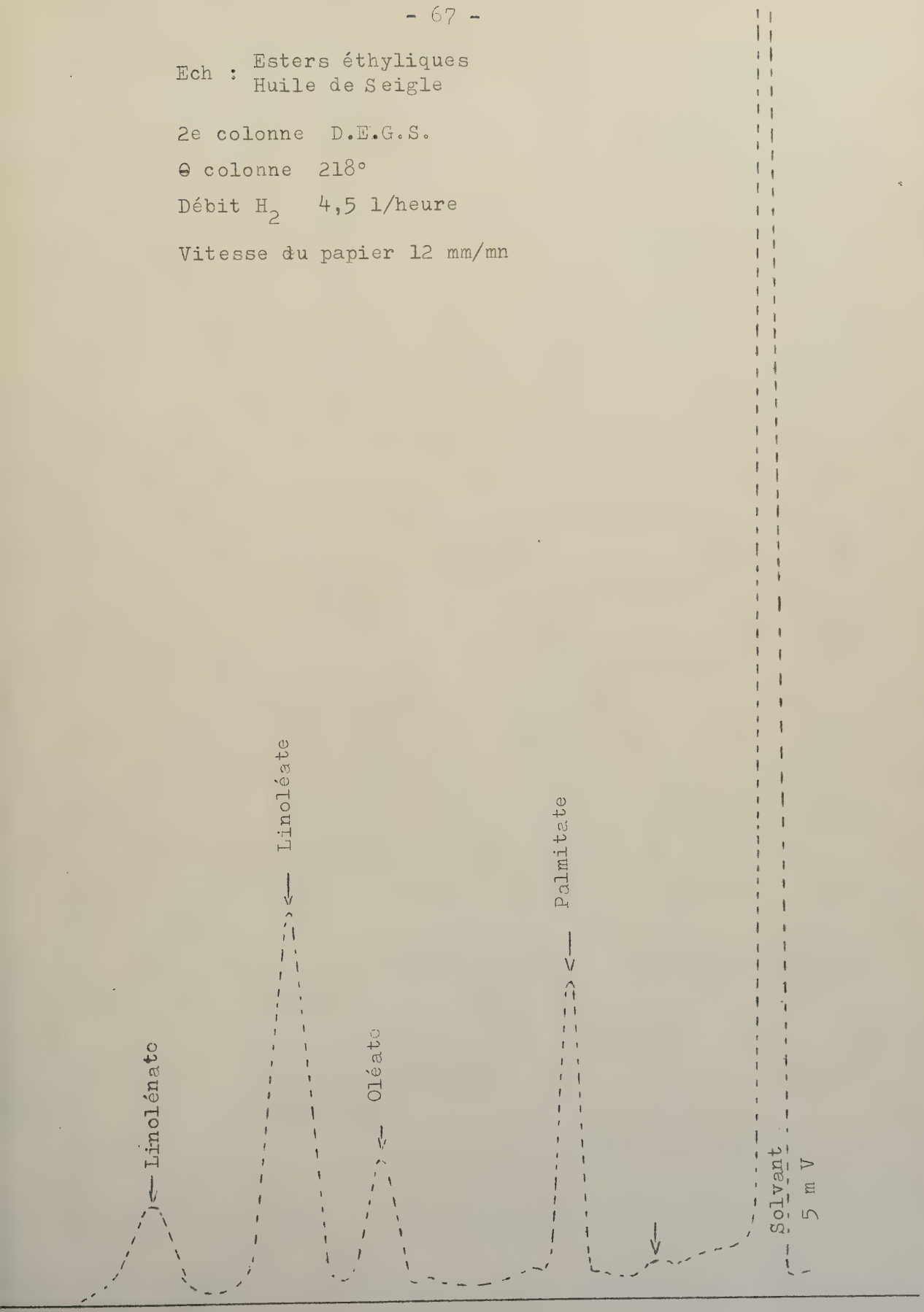
Ech : Esters éthyliques
Huile de Seigle

2e colonne D.E.G.S.

θ colonne 218°

Débit H_2 4,5 l/heure

Vitesse du papier 12 mm/mn



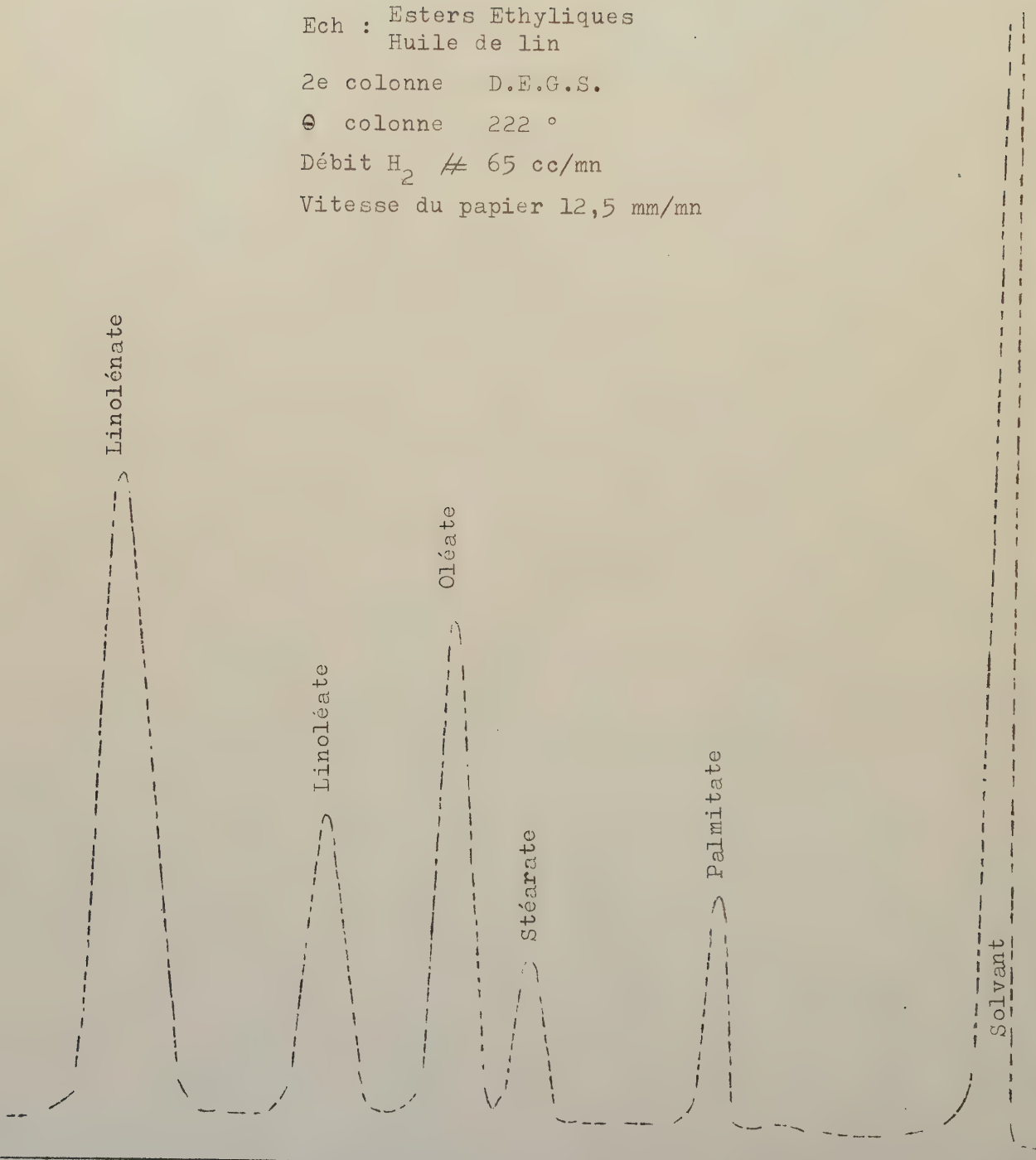
Ech : Esters Ethyliques
Huile de lin

2e colonne D.E.G.S.

Θ colonne 222 °

Débit H_2 ≠ 65 cc/mn

Vitesse du papier 12,5 mm/mn



Esters Ethyliques
Ech : Huile de Vison
2e Colonne D.E.G.S.
θ colonne 218°
Débit H_2 4,5 l/mn
Vitesse du papier 12 mm/mn

Ech. : Linoléate d'Ethyle

2e colonne D.E.G.S.

θ colonne 218°

Débit H_2 4,5 l/heure

Vitesse du papier 12 mm / mn

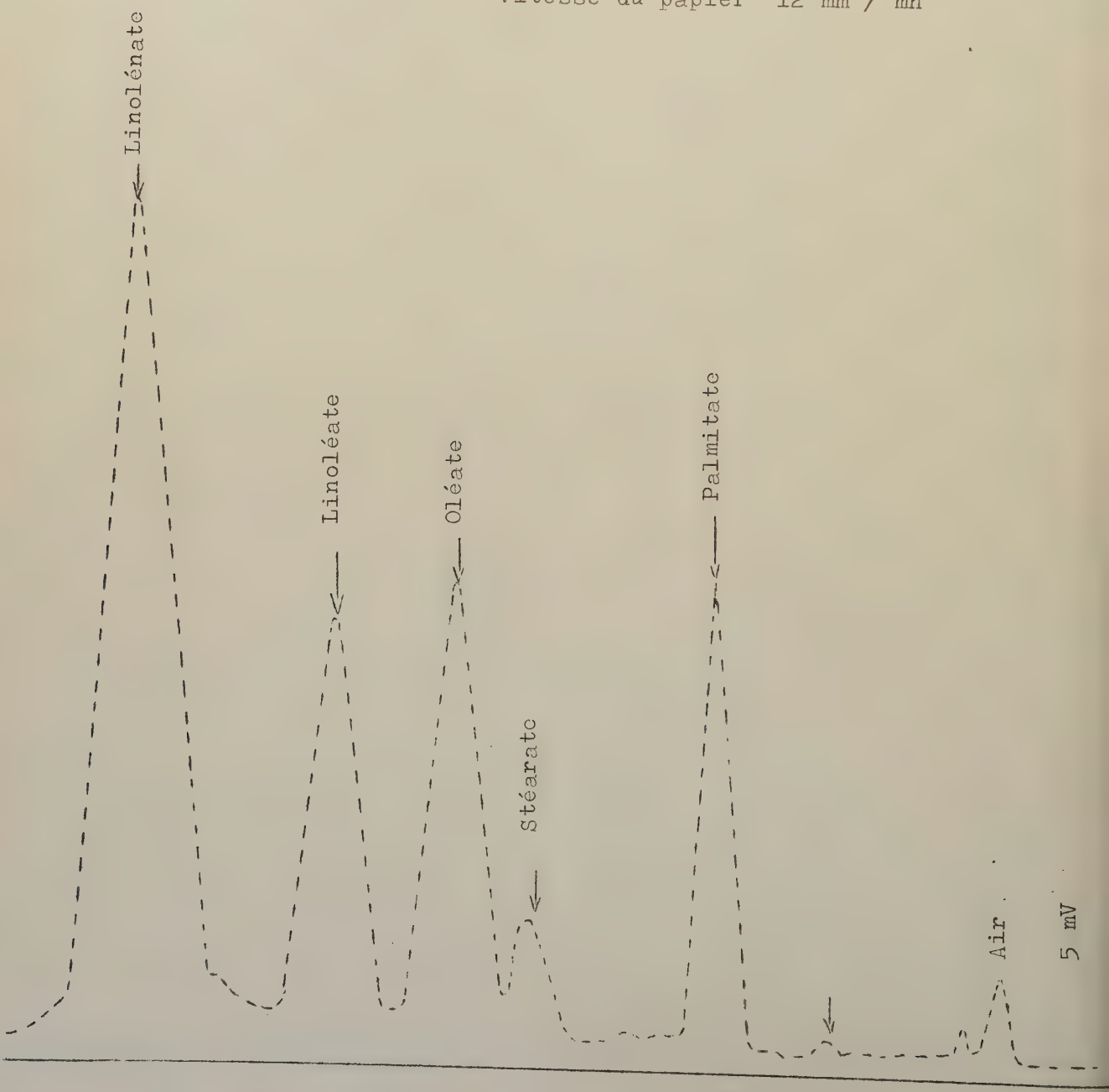


TABLEAU N° 2

ESTERS ETHYLIQUES TOTAUX DE L'HUILE									
Acides gras et nombre d'atomes de C de la chaîne	d'olive naturelle	d'amande douce	de noisette	d'avocat	de caroube	de seigle	de lin	de vison	de linoléate d'éthyle
non identifiée			1 %	traces					
Acide myristique C_{14}								5,8 %	
Acide palmitique C_{16}	19,8 %	12,5 %	3,8 %	32,8%	16,82%	34,83%	7,42%	24,4%	9,9 %
Acide palmitoléique C_{16}	2,4 %	0,6 %		4,75%	1,38%			17,7%	
Acide stéarique C_{18}	2,4 %	2,5 %	1,8 %		0,49%		8,02%	4,5%	4,1 %
Acide oléique C'_{18}	58,0%	58,0 %	84,3 %	45,37%	37,41%	10,97%	23;06%	36;2%	24,5 %
Acide linoléique $C''18$	15,7 %	28,0 %	9,9 %	11,30%	43,08%	41,55%	16,94%	5,9%	16,3 %
Acide linolénique $C''' 18$	1,4 %					10,59%	44,54%	3,5%	45,1 %

RESULTATS DE LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

ESTERS ETHYLIQUES TOTAUX DES HUILES

CHAPITRE II

-:-

ETUDE PHARMACODYNAMIQUE

-:-

A - TECHNIQUE UTILISEE

Nous avons utilisé dans nos essais la technique mise au point par Valette et Cavier (1951).

Cette technique est fondée sur le principe suivant : l'ésérine, en inhibant la cholinestérase accroît le taux d'acétylcholine, disponible au niveau de la terminaison neuro-musculaire et par là augmente la contractilité du muscle strié mise en évidence par la stimulation du nerf moteur correspondant.

Les conditions dans lesquelles cet effet peut être observé ont été déjà signalées par Bacq et Brown (1937).

Mode opératoire

L'expérience se fait sur des Rats albinos d'un poids d'environ 180 à 200 g, toujours de la même origine. L'animal est anesthésié au moyen d'une solution d'hydrate de chloral à 2 % dans le sérum physiologique, injecté par voie intra-péritonéale (300 mg par kg). Toute autre sorte d'anesthésie inhibe la réaction (Brown et coll. 1936).

Une fois endormi, l'animal est place en décubitus dorsal sur une planche à contention ; les incisives supérieures sont accrochées à un anneau fixé à l'extrémité d'une tige coulissante qui permet de maintenir la tête en extension. Les pattes postérieures sont fixées à des étriers dont l'extension est réglable de façon à immobiliser le Rat sans le serrer. A l'aide de ciseaux courbes, on épile la peau du ventre, en coupant les poils sur une surface rectangulaire de quatre sur cinq centimètres.

Pendant toute l'expérience on maintient à la normale la température de l'animal grâce à une lampe à filament de carbone.

On dissèque le nerf sciatique de l'une des pattes postérieures et on le charge sur une électrode de stimulation en évitant tout tiraillement.

Le mouvement de la patte est transmis à un levier inscripteur au moyen d'un fil attaché par une serre fine au doigt médian et passant sur une poulie. L'autre extrémité du levier est munie d'un ressort de rappel.

La stimulation du nerf sciatique est effectuée avec un stimulateur à thyratron fournissant des ondes rectangulaires (Racia BMI). Nous avons travaillé avec des stimuli d'une fréquence de 3 par minutes. On commence avec un voltage de 40 v et une durée de 10 millisec., conditions dans lesquelles on obtient en général une réponse maximale. On diminue ensuite le voltage et la durée de l'onde de stimulation pour s'assurer des possibilités des variations d'amplitude de la reponse. Les animaux insensibles chez lesquels ces variations ne sont pas observées sont éliminés. Finalement, les essais sont réalisés en utilisant des ondes de 35 volts et d'une durée de 5 millisec., de cette façon on obtient des inscriptions de 50 mm de hauteur, qui se maintiennent à peu près constantes pour un style inscripteur de 16 cm de long et un bras de traction de 7 cm.

L'inscription des contractions une fois en cours, on applique sur la surface de peau préparée un volume constant : 0,2 ml d'huile dans laquelle on a dissous au préalable une quantité connue d'ésérine base, cette solution ayant été amenée à une température voisine de 37°. On déclenche le chronomètre et on note le temps t^o au moment de l'application. Si la pénétration de l'ésérine se réalise on voit après un certain temps survenir brusquement l'elévation d'amplitude des contractions, amplitude qui s'était jusque là maintenue constante. On note alors le début de l'action : c'est le temps t_1. Le temps de latence représenté par la différence $t_1 - t_0$ peut être déterminé avec une précision de 1 minute.

Ce <u>temps de latence</u> est variable suivant chaque substance et proportionnel à la dose d'ésérine, jusqu'à une certaine limite. Valette et Cavier (1951) ont déterminé, par injections intrapéritonéales de salicylate d'eserine, le temps de latence correspondant à chaque dose. On peut alors exprimer les résultats de manière quantitative car il existe une relation lineaire entre l'inverse du temps de latence et la dose appliquée.

L'anesthésie de l'animal est renouvelée toutes les 45 minutes par injections d'un tiers de la dose primitive. La répétition des expériences pour une substance donnée, nous a permis de ne pas renouveler l'anesthésie au moment t_1 de façon à ne pas influer sur le début de l'action.

Nous n'avons pas observé durant nos expériences un phénomène de décroissance précédant la phase active, comme l'ont noté

Valette et Cavier (1954) et Huerre (1961). Cela était dû à la mauvaise pénétration des huiles.

Certains effets propres à l'action parasympathomimétique de l'ésérine peuvent accompagner la réaction, tels tremblements, diarrhée, qui entraînent parfois la mort de l'animal : ceci a été observé exceptionnellement au cours de nos essais.

Les solutions d'ésérine (base) étaient préparées au bain-marie à 60° chaque jour, et gardées du matin au soir à l'abri de la lumière et de la chaleur.

Conditions des essais

Les huiles que nous avons essayées ont été énumérées dans la partie physico-chimique de notre travail. Pour certaines d'entre elles, en particulier l'huile de noisette, nous avons utilisé plusieurs échantillons dont on trouvera les références dans les tableaux récapitulatifs des résultats.

La partie essentielle de notre travail effectuée sur les huiles, a été complétée par l'étude du pouvoir de pénétration d'un certain nombre d'esters éthyliques des acides gras totaux dont la préparation a été donnée dans le chapitre précédent. Le but de ces derniers essais était de fournir quelques précisions sur les causes du pouvoir penetrant des principales huiles, et en même temps d'obtenir des véhicules plus pénétrants que les huiles elles-mêmes.

De plus, quelques esters purs ou prétendus tels, mentionnés dans le chapitre précédent (oléate, linoléate, myristate et laurate d'éthyle, palmitate et myristate d'isopropyle) ont été essayés plus sommairement, dans le but de préciser l'influence particulière de la nature des acides gras.

Au cours d'essais préliminaires, nous fondant sur la dose de salicylate d'ésérine (à 0,5 mg) utilisee par Valette et Cavier (1954) dans l'essai du pouvoir pénétrant des hydrocarbures, des alcools, des esters éthyliques, et des constituants des essences, nous avons pensé qu'une dose de 1 mg d'ésérine base serait suffisante pour la mise en évidence de la pénétration de l'alcaloïde dissous dans les huiles.

Pour la plupart de ces dernières, cette dose d'ésérine a donné des résultats négatifs ou irrégulièrement positifs : dans ce cas, le temps de latence s'élevait à 60 minutes environ. Les doses de 1,25 et 2 mg se sont montrées encore insuffisantes (résultats irréguliers). Nous avons été amenée ainsi à choisir la dose de 5 mg, seule capable de permettre une différenciation des huiles. A titre d'exemple, les resultats de cette recherche

sont consignés dans le tableau n°3 pour l'huile de noisette. Mais, pratiquement un travail semblable a été conduit avec toutes les huiles.

TABLEAU N°3

Huile de noisette

Numéro de référence	Nombre d'animaux	Dose d'ésérine par animal (mg)	Temps de latence (mn) ± 6
135	7	5	39 ± 1
	6	1	58 ± 3,4
	25	1	> 120
136	1	5	39
	5	1	> 120
137	2	5	42,5
	4	1	> 120
138	3	5	43 ± 6,2
	2	1	> 120
139	2	5	39
	3	1,25	53 ± 6,6
	3	1	58 ± 3,4
	18	1 et 1,25	> 120
140	3	5	63 ± 8,8
	3	1	> 120
141	2	5	40

Relation entre la dose d'ésérine utilisée et le temps de latence

Dans le cas des esthers éthyliques seulement, la dose d'ésérine a été ramenée à 2 mg et même à 1 mg pour certains essais.

B - RESULTATS OBTENUS

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux n°4 et 4 bis.

Les résultats que nous donnons sont assortis de la valeur de l'écart type de la moyenne ($M \pm 2 S_m$), soit 95,5 pour cent des cas.

Les temps de latence qui figurent pour chaque produit correspondent à la moyenne des temps de latence obtenus au cours de plusieurs essais (4 à 11).

1) Huiles

Pour la plupart des huiles essayées, le temps de latence est superieur à 25 mn, lorsque la dose d'ésérine appliquée est de 5 mg. Seules les huiles de lin, de carthame et d'avocat, parmi les huiles végétales, et l'huile de vison parmi les huiles animales présentent un temps de pénétration plus court.

Dans le cas de l'huile de carthame (temps de latence 20 ± 1 mn), nous avons observé la mort de 9 animaux sur 10, avec tous les symptômes de l'intoxication par l'ésérine (myosis, exopthalmie, sudation, etc...).

Les huiles les moins pénétrantes sont les huiles d'olive et de colza (60 mn), l'huile de germe de riz n'a donné aucune pénétration.

A l'exception de l'huile de vison à pénétration très rapide, les huiles animales étudiées presentent un pouvoir de pénétration peu élevé par comparaison avec l'ensemble des autres huiles.

D'une façon générale, il nous faut constater que la pénétration cutanée des huiles est relativement faible puisqu'il a fallu utiliser une dose d'ésérine cinq fois plus forte que celle que l'on utilise couramment dans la technique en question, pour obtenir une réponse.

Or, on peut essayer de calculer approximativement, la quantité d'ésérine qui passe dans l'organisme. En effet, comme nous l'avons déjà signalé, Valette et Cavier (1951), par injec-

TABLEAU N°4

PRODUITS ESSAYES	NOMBRE D'ANIMAUX	TEMPS DE LATENCE (mn) ± α
Huile d'olive naturelle	7	54 ± 4
	2	53
Huile d'amande douce	9	44 ± 5
Huile de noisette	7	39 ± 1
	2	40
Huile d'amandon d'olive	5	46,6 ± 4,9
Huile de colza	2	60
	7	> 80
Huile d'avocat	9	23 ± 3,4
Huile de noix	8	26,7 ± 2,2
Huile de carthame	10	20 ± 1
Huile de soja	5	41,6 ± 1,8
Huile de lin	7	19,7 ± 2,4

VITESSE DE PENETRATION DE L'ESERINE (5 mg) DANS LES DIFFERENTES HUILES

TABLEAU N°4 bis

PRODUITS ESSAYES	NOMBRE d'ANIMAUX	TEMPS DE LATENCE (mn) $\pm \alpha$
Huile de germe de riz	3	> 70 m
Huile de germe de caroube	11	29 ± 2,8
Huile de germe de maïs	10	32 ± 4,8
Huile de germe de blé REF 172	9	29,4 ± 3
Huile de germe de blé REF 173	7	48 ± 5,4
Huile de germe de seigle	4	28,5 ± 1,3
Huile de foie de morue	6	33,6 ± 4,5
Huile de thon	8	28,5 ± 4,5
Huile de vison	10	20 ± 2,5

VITESSE DE PENETRATION DE L'ESERINE (5 mg) DANS LES DIFFERENTES HUILES

tion sous cutanée de salicylate d'ésérine chez le Rat, ont constaté qu'il existait une relation linéaire entre l'inverse du temps de latence et la dose d'ésérine injectée, dans certaines limites au moins. La courbe qu'ils ont tracée permet ainsi d'évaluer, d'après le temps de latence, la dose approximative d'ésérine absorbée dans l'organisme. Bien que nous ayons utilisé l'ésérine base, et non un sel, la comparaison peut être valable, car l'activité spécifique de l'alcaloïde est caractérisee sensiblement par le même temps de latence et la même intensité, qu'il s'agisse de la base ou des sels comme pour le sulfate ou le salicylate (Ruckebusch et Bost, 1962). Nous avons pu ainsi calculer que les temps de latence obtenus dans nos essais pouvaient correspondre à l'action de doses d'ésérine comprises entre 0,025 et 0,050 mg, dans les cas les plus favorables, c'est-à-dire qu'à peine le 1/100 de la dose appliquée aurait pénétré au travers de la peau. Cependant, on ne peut accorder une valeur absolue à ces évaluations, car la mortalité observée lors de l'essai de l'huile de carthame doit correspondre au passage d'une quantité d'ésérine beaucoup plus élevée. Nous pensons que dans ce cas, le temps de latence (20 mn) est un temps minimal, en presence d'un véhicule huileux et que la relation precedente n'est plus valable.

2) Esters éthyliques totaux (tableau n°5)

Les esters éthyliques totaux d'une huile se sont montrés plus pénétrants à travers la peau que l'huile d'où ils proviennent puisqu'une dose de 2 mg ou même 1 mg d'ésérine s'est trouvée suffisante dans la plupart des cas pour donner une réponse, sauf pour l'ester de l'huile d'avocat qui dans les mêmes conditions n'a pas donné de réponse au bout d'une heure.

A cette exception près, les temps de latence des esters éthyliques totaux pour 2 mg d'ésérine sont compris entre 19 $\pm$ et 35 $\pm$ 4,3 mn. Pour observer un temps de pénétration de 19 mn avec les huiles les plus pénétrantes, il nous a fallu utiliser 5 mg d'ésérine au lieu de 2 mg.

Les esters éthyliques des huiles de carthame, de lin et de germe de blé se sont montrés les plus pénétrants, tandis que l'ester correspondant à l'huile d'olive est le moins pénétrant. Classés selon leur pouvoir de pénétration, les esters éthyliques se rangent sensiblement dans le même ordre que les huiles correspondantes, mais les différences sont ici beaucoup moins tranchées étant donné l'écart assez faible qui separe les valeurs extrêmes du temps de latence.

TABLEAU N°5

PRODUITS ESSAYES	NOMBRE d'ANIMAUX	TEMPS DE LATENCE (mn) ± α
E.E.T. de l'huile d'amande douce	6	24 ± 3,1
E.E.T. de l'huile de noisette	5	27,2 ± 1,8
E.E.T. de l'huile d'olive	5	35 ± 4,3
E.E.T. de l'huile de carthame	3	23 ± 0
E.E.T. de l'huile de lin	2	21
E.E.T. de l'huile de germe de blé	3	19 ± 0
E.E.T. de l'huile d'avocat	2	> 80

VITESSE DE PENETRATION DE L'ESERINE (2 mg) DANS LES ESTERS ETHYLIQUES TOTAUX (E.E.T.) DE DIFFERENTES HUILES

3) Esters purs

Ces composés n'ont donné lieu qu'à un petit nombre d'essais, les renseignements que nous en avons tirés se sont limités à une valeur seulement indicative et nous y ferons allusion dans l'interprétation de l'ensemble de nos résultats.

-:-

CHAPITRE III

-:-

INTERPRETATION ET DISCUSSION DES RESULTATS

-:-

Nous allons envisager maintenant comment il est possible d'interpréter les résultats que nous venons d'exposer à la lumière des connaissances anterieures et des renseignements qui nous ont été apportés par l'étude physico-chimique.

Nous examinerons successivement :

- le rôle de l'acidité
- le rôle de la viscosité et de l'indice d'iode
- le rôle de la matière insaponifiable et de la lécithine
- le rôle de la longueur et de la structure de la chaîne carbonée.

1) Rôle de l'indice d'acidité

L'huile d'avocat, avec un très fort indice d'acidité (28) est l'une des plus pénétrantes. De même l'huile de germe de seigle (indice 20,9) présente une vitesse de penétration notable. Par contre l'huile de germe de riz qui est encore plus acide que les précédentes (indice 45) ne penetre pas du tout.

De plus, si l'on considère les huiles neutres et celles qui ont un faible indice d'acidité, on constate que ce sont ces dernières qui présentent le pouvoir de pénétration le plus grand. C'est le cas, par exemple de l'huile de caroube (indice d'acidité 5,8) comparativement aux huiles de germe de blé et de maïs (indice d'acidité $\neq$ 0).

Il serait sans doute interessant de caractériser dans chaque cas la nature des acides gras auxquels est dûe l'acidité de l'huile, ce qui ne pouvait être résolu que très partiellement, par la chromatographie en phase gazeuse.

Pour l'instant, nous pouvons dire que l'acidité d'une huile paraît favoriser la pénétration cutanee de cette dernière sans constituer toutefois un facteur déterminant.

2) Rôle de la viscosité et de l'indice d'iode

Ces deux facteurs qui sont liés dans une certaine mesure puisque la viscosité s'abaisse au fur et à mesure que l'indice d'iode s'élève, semblent d'une grande importance pour la question qui nous occupe.

L'influence favorable d'une diminution de la viscosité d'un véhicule sur la penétration cutanée avait retenu l'attention de divers auteurs Vollmer et coll. (1942), Brown et Scott (1943), Valette (1954), Hadgraft (1961).

Le graphique n°10 représente les variations de temps de latence en fonction de la viscosité des huiles étudiées. D'autre part nous avons rassemblé sur la planche n°1 les tracés des expériences avec les huiles de lin, de maïs et de noisette qui ont donné des temps de pénétration de l'ésérine en raison inverse de leurs viscosités respectives.

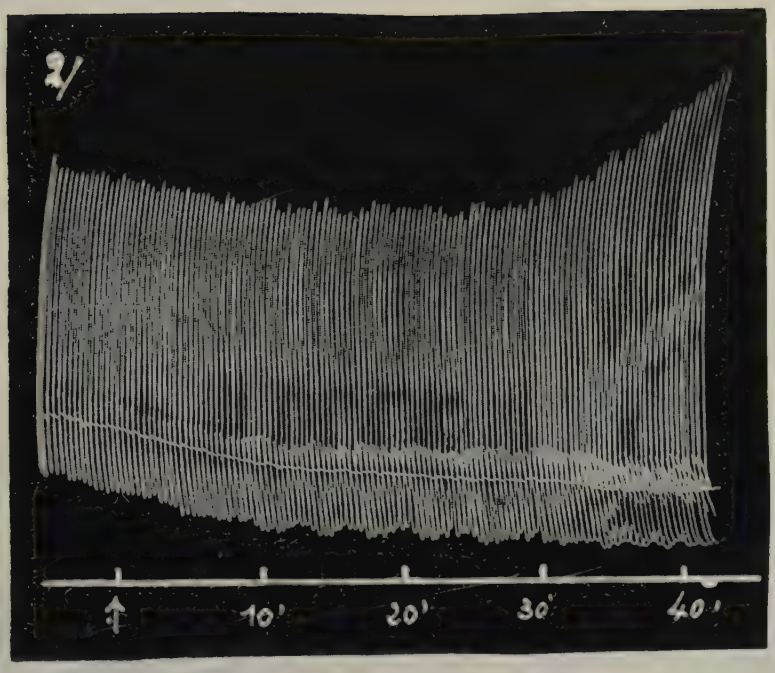
Les deux huiles qui présentent la plus grande vitesse de pénétration, c'est-à-dire les huiles de lin et de carthame ont aussi la viscosité la plus faible. Les huiles de noisette, d'amande, d'olive et d'amandon d'olive se rangent sensiblement dans le même ordre quant à leur vitesse de pénétration, et à l'inverse de leur viscosité. De plus, les deux huiles qui ont la viscosité la plus élevée, l'huile de germe de riz et l'huile de colza n'ont montré qu'un pouvoir de pénétration très faible ou nul.

A l'inverse de ces résultats, l'huile de soja fait exception et s'est montrée très peu pénétrante (41,6 $\pm$ 1,83 mn) au cours de tous les essais malgre sa très faible viscosité. Dans ce cas, comme nous le verrons plus loin, il semble que la présence des lécithines qui, comme nous l'avons dit, se trouvent en abondance dans cette huile, soit un facteur antagoniste.

Notons aussi que l'huile de germe de seigle et l'huile de noix ont fourni des temps de pénétration inférieurs à ceux que l'on pouvait attendre, compte tenu de leur faible viscosité (fig.10). Or la première de ces huiles renferme une quantité importante d'insaponifiable (8 %) et la seconde est relativement riche en lécithines, éléments dont nous verrons plus loin l'influence défavorable sur la pénétration cutanée.

Inversement, l'huile d'avocat et l'huile de vison, avec une assez forte viscosité se sont montrées parmi les plus pénétrantes ; dans ce cas un facteur favorable doit être recherché dans la composition chimique de l'huile. Cette question sera examinée plus loin.

L'importance de la valeur de l'indice d'iode mérite aussi



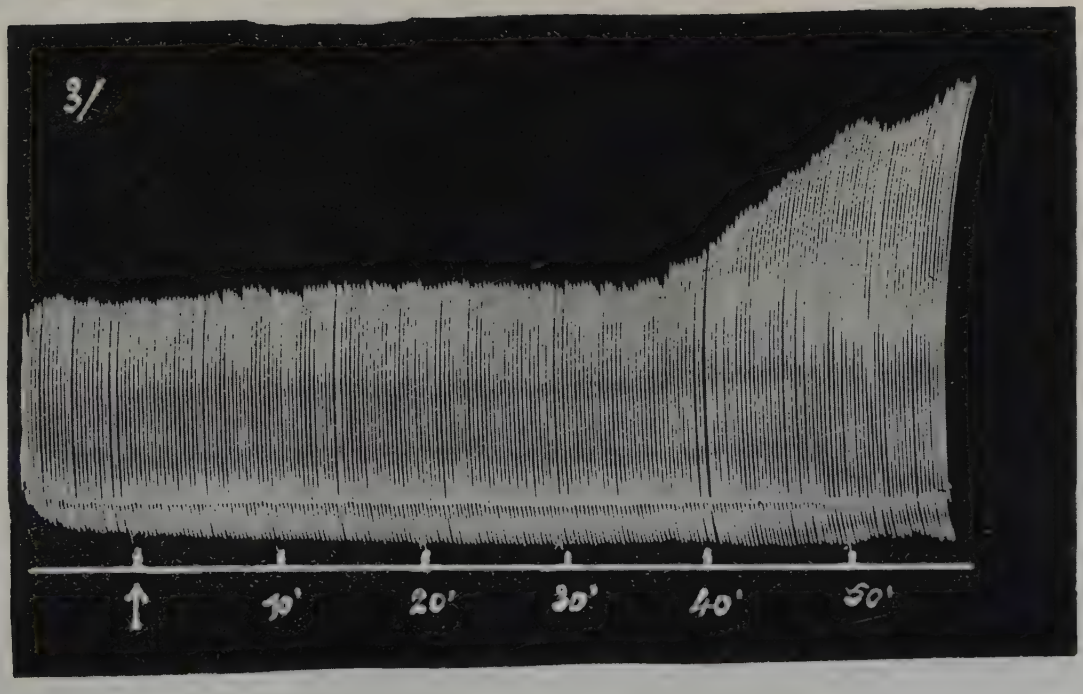


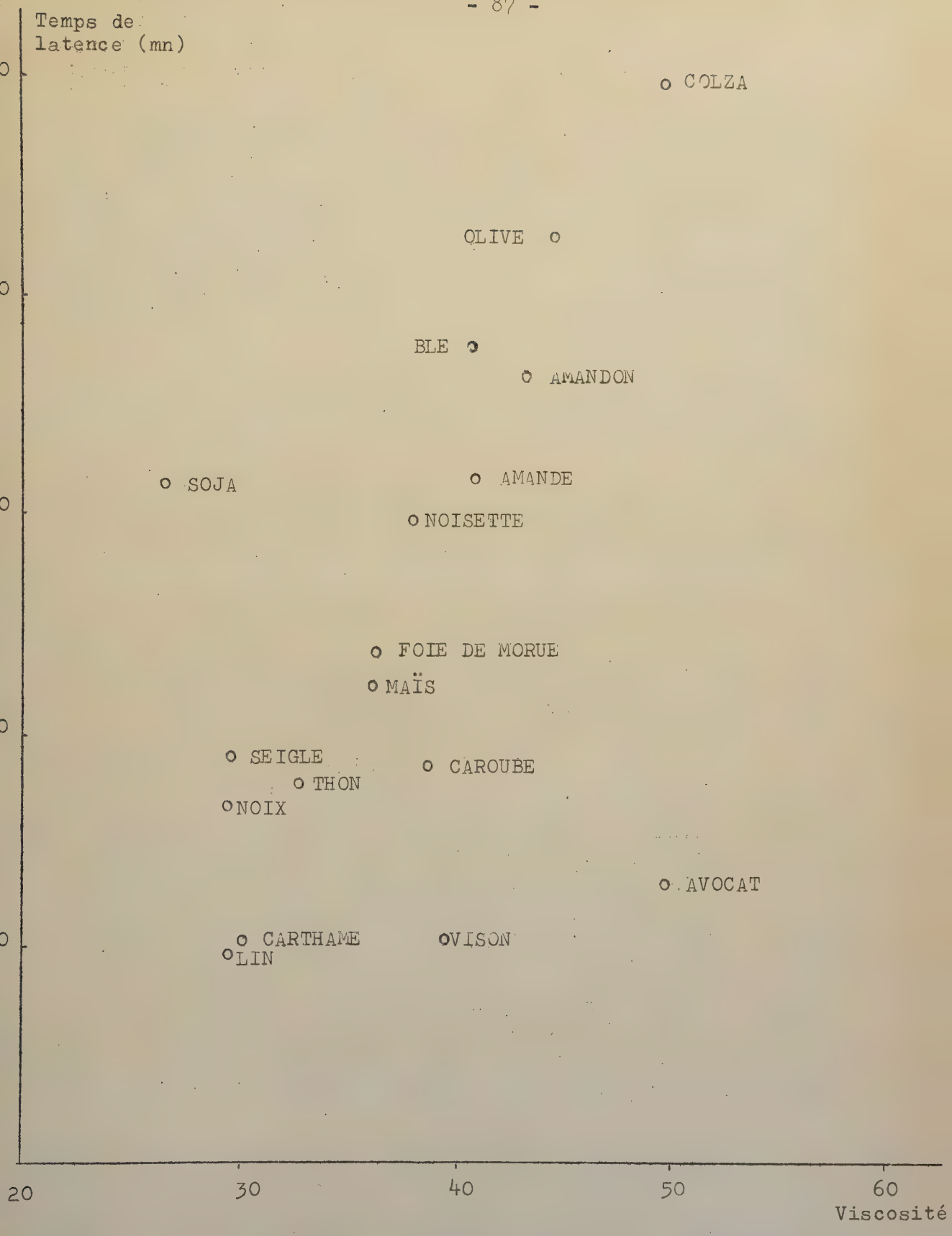
Planche I

Vitesse de pénétration de l'ésérine dissoute dans:

1/ l'huile de lin

2/ l'huile de terre de cafs

3/ l'huile de noisette



Relation entre la viscosité et le temps de latence

Graphique n° 10

d'être soulignée ; elle ne s'exerce cependant pas d'une manière parallèle à celle de la viscosité, bien que cette dernière propriété soit liée en partie au degré de non saturation des acides gras. En effet, on peut distinguer, assez grossièrement, des valeurs faibles, moyennes et élevées de l'indice d'iode, les premières comprises entre 80 et 100, les secondes entre 110 et 125 et les dernières au delà et jusqu'à 170. Les huiles se trouveraient ainsi réparties en trois groupes qui se caractérisent assez bien par un pouvoir de pénétration faible, moyen ou notable (voir le graphique n°11).

Cependant, on trouve là encore des exceptions : l'huile de vison et l'huile d'avocat, à indice d'iode bas (81-82) possèdent un pouvoir de pénétration assez élevé, comme il a été déjà signalé.

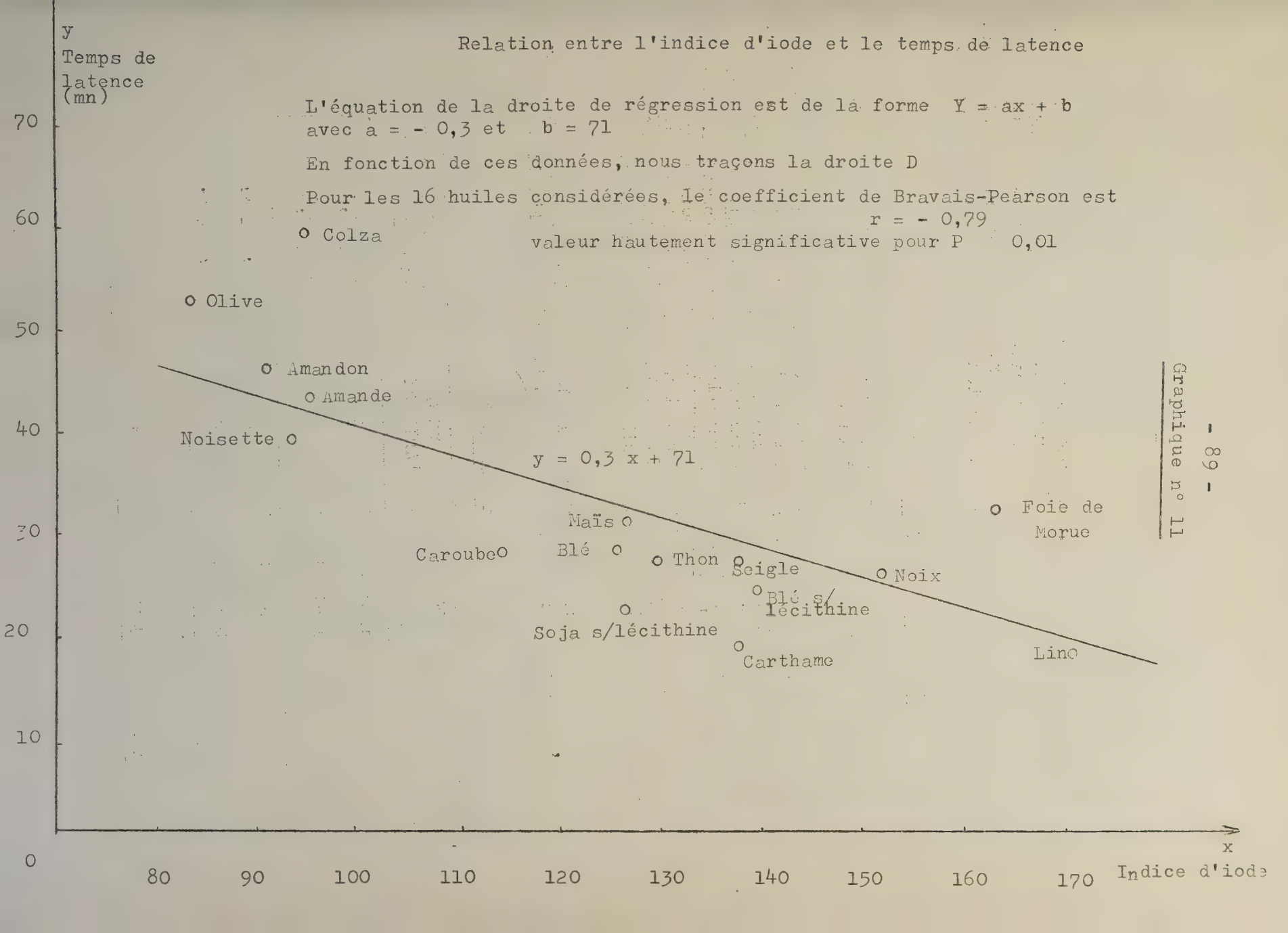
La seule explication des anomalies que nous venons de signaler sera apportée par l'examen des résultats de la chromatographie en phase gazeuse.

3) Rôle du taux des matières insaponifiables

Les huiles qui ont donné la meilleure pénétration présentaient un taux d'insaponifiable inferieur à 2 %. En particulier, pour les huiles de carthame et de lin dont la pénétration est la plus rapide, ce taux est inférieur à 1 %.

Au contraire l'huile de germe de riz qui a le taux le plus élevé d'insaponifiable (11 %), ne pénètre aucunement à travers la peau. De même, l'huile de germe de seigle, qui contient 8 % d'insaponifiable, a donné comme nous l'avons vu, un temps de latence relativement long contrastant avec sa faible viscosité. Afin de prouver l'influence exercée par le taux d'insaponifiable nous avons incorporé à l'huile de carthame, dans la proportion de 2,5 % l'insaponifiable de l'huile de germe de seigle, isolé et séché, or le produit obtenu n'a présenté qu'un très faible pouvoir pénétrant, le temps de latence étant supérieur à 70 minutes. Certes la préparation ainsi obtenue présentait une consistance sirupeuse et un aspect trouble, que l'on n'observe jamais avec les huiles naturellement riches en stérols, ces derniers étant parfaitement dissous grâce à certains constituants de ces huiles. Le résultat de cette expérience ne peut être cependant négligé.

Malgré un taux d'insaponifiable assez élevé (4,2), l'huile de thon possède un pouvoir de pénétration au dessus de la moyenne, le temps de latence ayant été de 28,5 $\pm$ 4,5 mn mais la composition de cette huile nous étant mal connue il nous est difficile d'émettre une conclusion à cet égard.



Graphique n° 11

A première vue, un taux élevé d'insaponifiable semble donc défavorable à la pénétration cutanée, mais ce jugement doit être nuance car la composition de la fraction insaponifiable d'une huile est tres variable et des élements aussi divers que pigments, sterols, hydrocarbures ont des actions propres fort différentes, sinon opposées.

Rôle des lécithines

Le même effet défavorable sur la pénétration transcutanée peut être attribué à la lécithine.

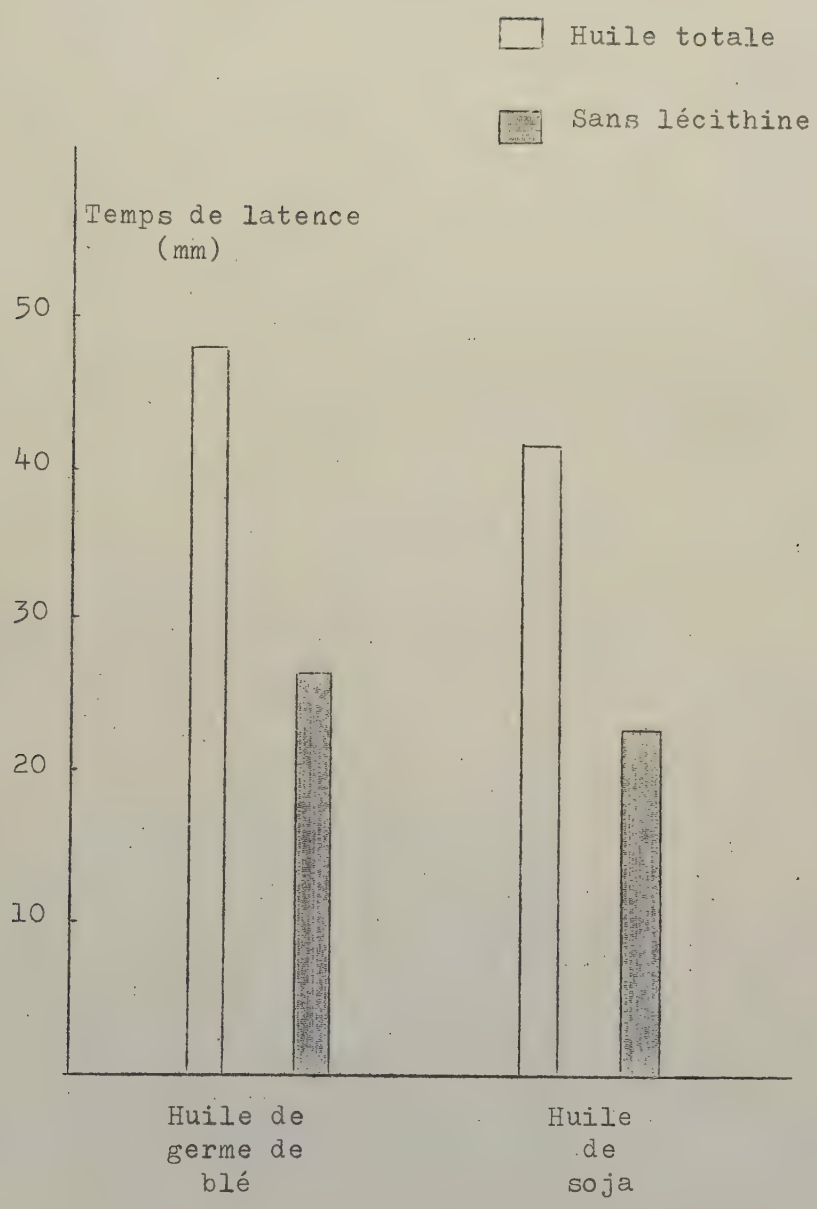
Nous avons souligné precedemment la pénétration très réduite de l'huile de soja, malgre un indice d'iode relativement élevé et une viscosité tres faible. Or nous avons repris l'expérimentation sur une huile débarrassée des lécithines par agitation avec l'eau chaude et séparation par centrifugation, comparativement à l'huile de soja normale. Comme on peut le voir sur le tableau n°6 et sur le graphique joint, la pénétration de l'huile ainsi traitée est considérablement augmentée. Le même résultat a été obtenu pour l'huile de germe de blé (voir planche n°2).

Cette influence défavorable de la lécithine peut sans doute s'expliquer par son effet sur l'hydrophilie de l'huile.

TABLEAU N°6

HUILE ESSAYEE		NOMBRE d'ANIMAUX	TEMPS DE LATENCE (mn) ± α
Germe de blé	avec lécithine	7	48 ± 5,4
	sans lécithine	6	26 ± 2,3
Soja	avec lécithine	5	41,6 ± 1,8
	sans lécithine	5	23,7 ± 2,5

ACTION DE LA LECITHINE - DOSE D'ESERINE PAR ANIMAL 5 mg


Huile totale
Sans lécithine
Temps de latence
(mm)
50
40
30
20
10
Huile de germe de blé
Huile de soja

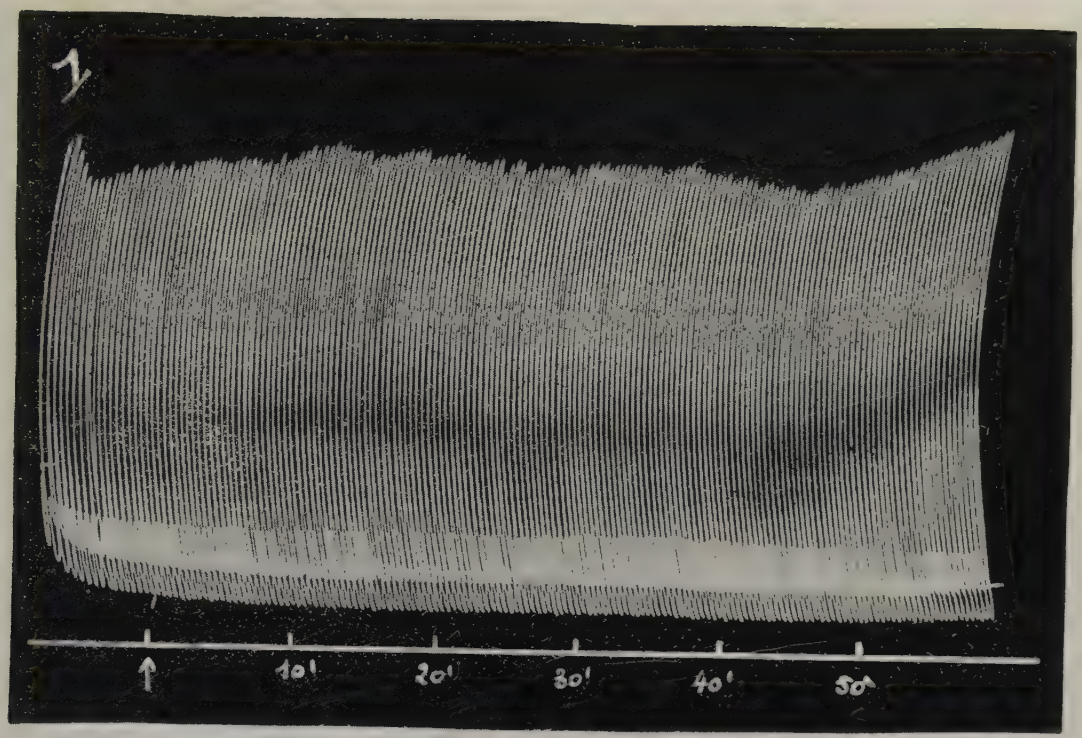
4) Rôle de la longueur et de la structure de la chaîne carbonée

Les résultats de la chromatographie en phase gazeuse d'esters éthyliques de diverses huiles figurent dans le tableau n°2 et l'interprétation de ces données permet comme nous allons le voir de préciser l'influence des divers constituants sur le pouvoir de pénétration cutanée.

Les huiles d'olive, d'amande douce et de noisette présentent des constantes physico-chimiques comparables et des vitesses de pénétration assez faibles et relativement voisines et c'est en comparant leur composition chimique que l'on peut expliquer ces faibles différences d'activité. Ainsi dans le cas de l'huile d'olive qui est la moins pénétrante des trois huiles (temps de latence 53 mn), on trouve à côte d'une proportion d'acide stéarique plus élevée que dans les autres huiles, une proportion également importante d'acide palmitique, ces acides gras saturés constituant des éléments frénateurs de la pénétration. L'huile d'amande douce se caractérise, comparativement à la précédente, par un taux plus faible en acide palmitique et un taux plus élevé en acide linoléique ; or le pouvoir de pénétration cutanée est un peu plus rapide (44 ± 5 mn) dans le cas de l'huile de noisette, l'influence des divers composants (acides saturés et insaturés) est plus difficile à mettre en évidence, en effet, les taux en acides saturés et notamment en acide palmitique sont beaucoup plus faibles que dans l'huile d'amande, mais en contrepartie, le taux en acide linoléique est relativement réduit. Les résultats obtenus chez les animaux n'offrent pas cependant une différence significative (temps de latence 40 mn) avec ceux qu'a fournis l'huile d'amande de sorte qu'aucun élément valable ne peut être tiré de la comparaison de ces deux derniers résultats.

En ce qui concerne les huiles de germe, la chromatographie en phase gazeuse des esters éthyliques a été effectuée seulement pour l'huile de germe de caroube et l'huile de germe de seigle. Nous avons constaté la présence d'une proportion insignifiante d'acide stéarique et d'une proportion assez importante d'acide palmitique, surtout pour l'huile de germe de seigle, mais en compensation, un taux élevé en acides polyinsaturés, acide linoléique, dans les deux cas, et acide linolénique pour l'huile de germe de seigle, ce qui peut expliquer le pouvoir de pénétration cutanée assez élevé de ces deux huiles (temps de latence 29 ± 2,8 et 28,5 ± 1,3 mn).

La proportion d'acide linoléique dans l'huile de lin serait responsable de la pénétration rapide. Avec l'huile de carthame, riche également en acides gras polyinsaturés, l'huile de lin se classe parmi les huiles possédant les pouvoirs de pénétration les plus élevés.



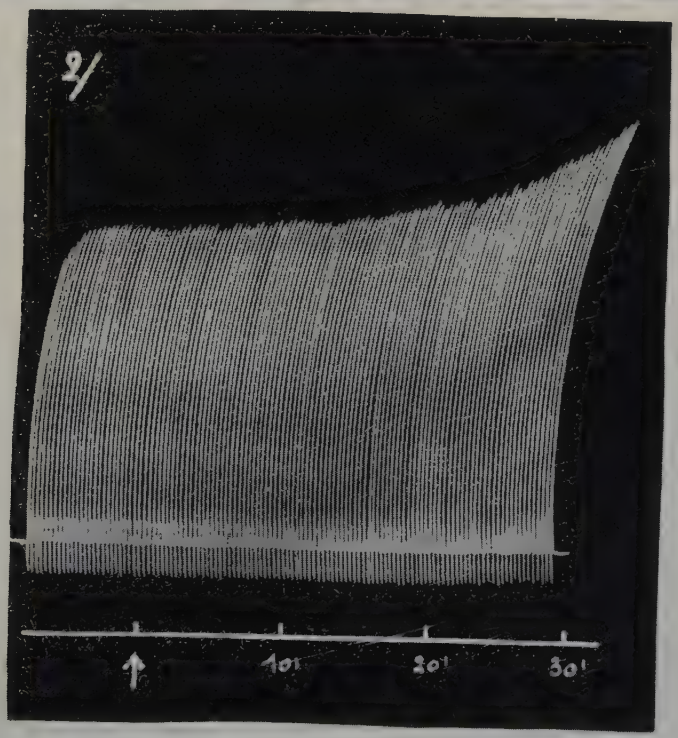


Planche 2

Vitesse de pénétration de l'ésérine dissoute dans l'huile de germe de blé:

1/ totale

2/ privée de lécithines

L'huile de vison occupe une place à part. Si les constantes physico-chimiques de cette huile (viscosité relativement élevée, indice d'iode faible) ne permettent pas d'expliquer la pénétration aussi rapide que celle des deux huiles précédentes, sa composition en acides gras est au contraire très particulière. En effet, nous y constatons la présence à côté de taux assez élevés en acide stéarique et en acide palmitique, d'acide myristique (5,8 %) et surtout d'acide palmitoléique (17,7 %) constituants assez rares dans le groupe des huiles étudiées. C'est ici le lieu de rappeler que le raccourcissement de la chaîne carbonée, au moins jusqu'en C_7, est favorable à la pénétration cutanée (Valette et Cavier 1954), ce que nous avons vérifié en outre en constant que le laurate d'éthyle pénètre plus rapidement à travers la peau que le myristate d'éthyle et que d'autre part le myristate d'isopropyle pénètre plus rapidement que le palmitate d'isopropyle. De plus l'introduction d'une double liaison dans la molécule d'un acide gras saturé exerce un effet très favorable sur le pouvoir de pénétration à travers la peau. Ces deux arguments nous permettent d'attribuer à la présence d'acide myristique et d'acide palmitoléique l'activité apparemment anormale de l'huile de vison.

En ce qui concerne l'huile d'avocat, la chromatographie en phase gazeuse apporte à première vue peu d'éléments valables pour en expliquer la pénétration relativement rapide (temps de latence 23 $\pm$ 3,4 mn) attribuée initialement à sa forte acidité. La composition de cette huile révèle des taux élevés en acide palmitique (32,8 %) et en acide oléique (45,37 %), qui paraissent insuffisamment compensés par des taux élevés en acide polyinsaturés (11,3 % d'acide linoléique). La chromatographie révèle seulement des traces d'acides gras non identifiés, probablement à courte chaîne, mais il faut en plus tenir compte du fait qu'une grande partie de ceux-ci a dû être éliminée lors des opérations préalables à la préparation des esters (lavages). Or on sait que les acides gras compris entre C_4 et C_6 (butyrique et caproique) sont doués d'un fort pouvoir de pénétration.

En conclusion nous pouvons préciser de la manière suivante le rôle des différents facteurs que nous venons d'étudier dans le phénomène de pénétration des huiles à travers la peau.

- Indice d'acidité. Un indice d'acidité élevé ne semble pas un facteur essentiellement favorable, mais il est possible que la présence de certains acides gras à courte chaîne facilite la pénétration d'une huile.

- Viscosité. La viscosité semble être un facteur physique primordial : le pouvoir de pénétration d'une huile à travers la peau est le plus souvent en raison inverse de sa viscosité.

- Indice d'iode. D'une façon générale, le pouvoir de pénétration des huiles à travers la peau s'accroît en même temps qu'augmente l'indice d'iode, mais la relation observée présente certaines irrégularités probablement imputables à l'intervention des autres facteurs.

- Taux d'insaponifiable. Un taux elevé en matière insaponifiable ne favorise pas la pénétration cutanée mais semble au contraire la gêner. Toutefois cette constatation doit être corrigée en tenant compte de la composition de l'insaponifiable.

- Présence de lécithines. La lécithine retarde la pénétration cutanée probablement en raison de son caractère hydrophile.

- Longueur et structure de la chaîne carbonée. Dans les conditions où nous nous sommes trouvée (huiles renfermant surtout des acides gras de C_{14} à C_{18}), le pouvoir de pénétration cutanée se montre d'autant plus élevé que la chaîne carbonée est plus courte, quelle que soit la structure saturée ou insaturée de la chaîne.

La présence des acides saturés en C_{16} et C_{18} en forte proportion est un élément défavorable à la pénétration à travers la peau.

Les acides insaturés et surtout polyinsaturés favorisent fortement la pénétration cutanée et ceci nous paraît être un facteur essentiel.

Le pouvoir de pénétration d'une huile à travers la peau est conditionné finalement par deux facteurs principaux : d'une part, la présence d'acides gras insaturés ou plus exactement la proportion relative des acides gras saturés et insaturés, d'autre part, la longueur de la chaîne de ces acides gras. Les facteurs physiques exerçant un effet favorable comme la viscosité ne sont évidemment que la conséquence de facteurs chimiques qui viennent d'être cités.

-:-

CONCLUSIONS GENERALES

-:-

Le travail que nous venons d'exposer est une contribution à l'étude des excipients utilisables dans la thérapeutique dermatologique en ce qui concerne leur pouvoir de pénétration cutanée.

La place importante accordée de tous temps aux excipients gras et aux huiles en particulier a ete l'objet de critiques non négligeables mais non toujours fondees, et surtout d'une portée non générale. En effet, ces critiques provenaient d'observations faites sur les seules huiles employées couramment en pharmacie, et dont les constantes physiques et chimiques n'étaient pas toujours déterminées avec précision.

Le but de notre travail a été de réaliser une étude plus étendue et plus systématique de cette question. Nous avons examiné ainsi toute une série (18) d'huiles végétales et animales, auxquelles nous avons joint des esters éthyliques d'acides gras provenant de ces huiles.

La détermination des principales constantes physiques et chimiques (poids spécifique, acidité, viscosité, indice d'iode, matières insaponifiables) nous a permis de préciser les caractéristiques des huiles utilisées.

D'autre part la chromatographie en phase gazeuse des esters éthyliques de quelques huiles nous a fourni des renseignements sur les acides gras entrant dans leur composition.

Le pouvoir de pénétration cutanée de ces huiles a été déterminé au moyen d'un test pharmacodynamique classique : la rapidité d'action de l'ésérine, dissoute dans l'huile à étudier prise comme véhicule, sur la contraction d'un muscle strié dont le nerf moteur est régulièrement stimulé.

Cette étude nous permet d'apporter quelques précisions sur le pouvoir de pénétration cutanée des huiles et sur les facteurs qui le conditionnent.

Pouvoir de pénétration

Les huiles végétales et animales, comparées à certains solvants organiques ou certaines essences végétales se montrent assez peu pénétrantes. La forte dose d'ésérine (5 mg) nécessaire pour obtenir dans tous les cas des réponses positives en est une preuve. Nous avons montré cependant que, dans les conditions de nos expériences, le pouvoir de pénétration de la plupart des huiles se trouve nettement superieur à celui des émulsions huile-dans-l'eau comme eau-dans-l'huile, et également supérieur aux excipients classiques tels que vaseline, axonge et lanoline.

Les esters éthyliques des acides gras constituants de ces huiles se sont montrés plus pénétrants, sans atteindre toutefois la rapidité de passage des solvants volatils ou des essences végétales.

Facteurs conditionnant la pénétration

- Parmi les constantes physiques des huiles, la viscosité apparaît comme un facteur essentiel intervenant de façon importante dans la pénétration cutanée : moins une huile est visqueuse plus rapidement elle favorise la pénétration d'un médicament à travers la peau.

- La présence de lécithines et d'un taux élevé de matières insaponifiables crée une entrave à la pénétration cutanée, à des degrés divers suivant la composition de cet insaponifiable.

- En dernière analyse, c'est essentiellement la nature des acides gras constitutifs qui permet de préciser dans quelle mesure une huile est pénétrante. En effet, le rôle favorable des acides insaturés et surtout polyinsatures est evident (acides palmitoléique, linoléique et linolénique) et la pénétration d'une huile dépend d'un équilibre convenable entre les taux respectifs d'acides saturés et d'acides insaturés.

Enfin, nous avons vu que la longueur de la chaîne carbonée d'un acide gras est un facteur important : la pénétration est d'autant plus rapide que la chaîne carbonée est plus courte. Cette influence peut se faire sentir pour une très faible modification de la longueur de la chaîne carbonée, aussi bien dans le cas des acides insaturés que dans celui des acides saturés.

En résumé, il apparaît que l'absorption cutanée d'une huile dépend du degré de non saturation des acides gras constituants, de la longueur de la chaîne carbonée de ces acides, du taux de matières insaponifiables et du taux de lécithines dans cette huile.

Si l'on désigne par N, le nombre de doubles liaisons
par L, la longueur de la chaîne carbonée
par I, le taux de matières insaponifiables
par P, le taux de lécithines,
on peut schématiser comme il suit l'absorption cutanée d'une huile :

$$\text{Absorption cutanée} = f\left(\frac{N}{L.I.P.}\right)$$

Naturellement, cette schématisation implique l'intervention des facteurs viscosité, indice d'iode, auxquels nous avons fait allusion plus haut et qui sont liés aux structures chimiques des constituants de l'huile consideree.

Les expériences que nous avons effectuées, en particulier avec des échantillons de provenances différentes d'une même huile, nous ont permis de constater que la vitesse de pénétration cutanee était très variable d'un échantillon à l'autre. Ce fait montre la nécessité qu'il y a à utiliser des matières premières rigoureusement contrôlées.

Si les huiles ne semblent pas au premier abord constituer une classe de véhicules très propices à l'application des médicaments destinés à être absorbés par la peau, quand on les compare aux autres véhicules que sont les solvants volatils (hydrocarbures, esters, etc...), elles présentent cependant l'avantage sur ces derniers d'être dépourvues d'effets irritants sur l'épiderme.

Les esters éthyliques de ces huiles ont le même avantage auquel s'associe un pouvoir de pénétration plus élevé.

Nous pensons donc avoir apporté des arguments sérieux en faveur de l'utilisation des huiles ou des esters éthyliques d'acides gras comme véhicules propices à l'absorption cutanée et nous espérons que les résultats obtenus trouveront leur confirmation en thérapeutique humaine.

-:-

BIBLIOGRAPHIE

-:-

AMRHEIN F. (1934) - Absorption of vitamine D from the skin.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.) 23, 182

ANDERSON SHRINER N. (1926) - Huile de maïs. La phytostérine de l'huile de maïs.
J. Am. Chem. Soc. 48, 2976

ANDRE E. (1923) - Les huiles d'animaux marins.
Conférences faites au Collège de France (3-10 février)
Paris.

(1927) - Production et usage des animaux marins.
Chim. et Ind. 10, n°3

ASENJO C. & GOYCO J. (1943) - Puerto Rico Fatty Oils. III The composition of the solid fraction of expressed avocado pulp oil.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.) 32, 259

AXELROD D., HAMILTON J. (1947) - Radio-autographic studies of the distribution of lewsite and mustard gas in skin and eyes tissues.
Am. J. Pathol. 23, 389

BACQ Z. et BROWN G. (1937) - Pharmacological experiments on mammalian voluntary muscle in relation to the theory of chemical transmission.
J. Physiol. (London), 89, 45

BARR M. (1962) - Percutaneous absorption.
J. Pharm. Sci. 51 395

BERTIN M. (1952) - L'huile d'amande douce d'autrefois.
Conférence faite à l'Institut Technique d'Etude et de Recherche des Corps gras.

(1961) - Considérations sur les huiles pharmaceutiques.
France Pharmacie 14, n°9

BETTLEY F. (1962) - Epidermal perméability
Conférence 2e Congress of the International Federation of Cosmetic Chemistry. London

BHATIA V., ZOPF L. (1952) - The effect of wool fat and some of its constituents on the absorption of phenolsulfonephtaleine through the intact skin.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.) 41, 542

BLANK I. (1953) - Further observations on factors which influence the water content of the stratum corneum.
J. Invest. Dermatol. 21, 259

BLANK I., GRIESEMER R. et GOULD E. (1957) - The penetration of an anticholinesterase agent (sarin) into the skin.
J. Invest. Dermatol. 29, 299 ·

(1958) - II Autoradiographic studies.
J. Invest. Dermatol. 30, 187

BLANK I. (1960) - Percutaneous : statement of problem and critical review of past method.
J. Soc. Cosmetic Chemist. 11, 59

BOST J. (1955) - Sur une technique pharmacodynamique permettant de comparer les vitesses d'absorption des solvants huileux.
Compt. Rend. Soc. Biol. 149, 1569

BOST J. et FARGEAS J. (1958) - Action du benzoate d'oestradiol par voie percutanée chez la Rate. Influence de la nature du solvant.
Compt. Rend. Soc. Biol. 152, 862

(1960) - Action directe du propionate de testostérone sur la crête du Poussin. Influence de la nature du solvant.
Compt. Rend. Ac. Sci. 154, 381

BOURNE G. (1957) - Use of an histochemical technique to demonstrate the cutaneous penetration of adrenalin and noradrenalin.
Nature (London) 180, 1488

BROCKEMEYER E. et GUTH E. (1955) - A measurement of the efficiency of ointment bases in releasing a local anesthesy.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.), 44, 706

BROWN E. et SCOTT W. (1934) - The comparative absorption of certain salicylate esters by the human skin.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 50, 373

BROWN G., DALE H., FELDEBERG W. (1936) - Reaction of the normal mammalian muscle to acethylcholine and to eserine.
J. Physiol. (London), 87, 394

BUTCHER E. - (1951) - The effects of applications of various substances on the epidermis of the rat.
J. Invest. Dermatol. 16, 95

(1953) - The penetration of fat and fatty acid into the skin of the rat.
J. Invest. Dermatol. 21, 43

(1953) - Penetration of radioactive stearic acid into the skin of the rat.
J. Invest. Dermatol. 21, 243

(1957) - The effect of several substances on the keratinization of the rat epidermis.
J. Invest. Dermatol. 29, 377

CHAVAN V. (1961) - Niger and safflower.
Poona Bombay p.117

CHEFTEL R., MOUTTI J., POLONOVSKY J. (1955) - Composition de l'huile de Clupea Pilchardus Wal, en acides gras non saturés.
Bull. Soc. Chim. Biol. 37, 709

COTTY V., KERPAC J., EDERMA H., ZURGOLA F., KUNA M. (1960) The Percutaneous absorption of salicylates as measured by blood plasma levels in the rabbit.
J. Soc. Cosmetic Chemist. 11, 97

CROSS J. (1955) - Mink oil. Some chemical and physical characteristics.
Drug Allied Ind. septembre

CROSS J. et EHRLICH J. (1957) - Fatty acids constituents of mink oil.
Drug. Allied Ind. 43, 10

CZETSCH-LINDENWALD H. Von (1943) - Ueber die Resorption von Salbengrundlagen.
Pharm. Ind. 10, 29

DUCOMMUN F. (1950) - De l'influence des excipients sur la pénétration de l'iodure de potassium et de l'acide salicylique appliqués sous forme de pommades.
Pharm. Acta Helv. 25, 1 et 25

DUEMLING W. (1941) - Wetting agents.
Arch. Derm. Syph. 43, 264

EICHELBERGER L., EISELE C., WERTZLER D. (1943) - The distribution of water nitrogen and electrolytes in skin.
J. Biol. Chem. 151, 177

ELLER J. et WOLFF S. (1939) - Permeability and absorptivity of the skin.
Arch. Derm. Syph. 40, 900

(1940) - Hormones and vitamins in cosmetics.
J. Am. Med. Assoc. 114, 1865

EMMENS C. (1941) - The inunction of sex hormones on the skin.
J. Endocrin. 2, 368

FASAL P. (1932) - Experimentalle Untersuchungen üger di Resorption Salben in Korporierten Schwefels und Klinische Ergebnisse bei Verwendung einer neuen Schwefelsabe.
Wien. med. Wschr. 191

FAUCONNET Ch. (1906) Cité par Ducommun en 1950

FAULKNER J. (1933) - Nicotine poisoning by absorption through skin.
J. Am. Med. Assoc. 100 1664

FEBVRE P., DENJEAN Ch. et COURDET R. (1961) - Influence de la nature des excipients pour pommades sur l'absorption percutanée de l'iodure de potassium, du salicylate de sodium et l'acide salicylique.
Ann. Pharm. Franc. 19, 442

FUSSGANGER R. (1935) - La hormona testicular.
Rev. med. german. ibero. amer. 8, 30

GEMMEL D. et MORRISSON J. (1957) - The release of medicinal substance from topical applications and their passage through the skin.
J. Pharm. Pharmacol. 9, 641

(1958) - The percutaneous absorption of sulphanilamide.
J. Pharm. Pharmacol. 10, 167

(1958) - Comparative studies on percutaneous absorption.
J. Pharm. Pharmacol. 10, 553

GOLOWANOFF (1926) - De la sensibilisation par la voie cutanée.
Compt. Rend. Soc. Bicl. Paris 94, 6

GREENE R., OPPENHEIMER E., BURRIL M. et NELSON D. (1941)
The effects of different types of ointments on the percutaneous potency of androgens.
Endocrinology 29, 979

GRIESEMER R. (1960) - Biological factors affecting percutaneous absorption.
J. Soc. Cosmetic. Chemist. 11, 79

HADGRAFT J. et SOMERS G. (1954) - A method for studying percutaneous absorption in the rat.
J. Pharm. Pharmacol. 6, 944

(1956) - Percutaneous absorption.
J. Pharm. Pharmacol. 8, 625

HADGRAFT J., SOMERS G. et WILLIAM H. (1956) - Percutaneous absorption using diiodofluorescein 131 I.
J. Pharm. Pharmacol. 8, 1027

HADGRAFT J. (1961) - Pharmaceutical formulation in skin medication
J. Pharm. Pharmacol. 13, 43

HARRIS M., MIZELL L. et FOURT L. (1942) - Elasticity of wool as related to its chemical structure.
J. Res. Nat. Bur. St. 29, 73

HARRY R. (1941) - Skin penetration.
Brit. J. Dermatol. 53, 65

HEINRICH S. (1961) - Contribution à l'étude de l'amandon d'olive.
Thèse en Pharmacie Univ. Nancy.

HELANDER S. (1945) - Detection of chemotherapeutic in thin section of tissues by the aid of fluorescence microscopy.
Nature, London, 105, 109

HERRMANN F., SULZBERGER M. et BAER R. (1942) - New penetrating vehicles and solvents.
Science 96, 451

HOMOLLE (1853) - Expériences physiologiques sur l'absorption par le tégument externe chez l'homme dans le bain.
Union médicale 7, 462

HUERRE M. (1961) - Influence de certains véhicules sur l'absorption percutanée de médicaments.
Thèse Pharmacie Paris.

IMSCHENETZKY A. (1930) - Uber die permeabilität der Haut für Trypanblaulösung unter Berücksichugung der Hautimmunitäts theorie von Besredka.
Z. Exp. Med. 69, 113

JANICKI J., DUDA Z., GOGOLEWSKI M. (1958) - Oznaczenie witaminy E w niektorych krajowych produktach zbozowych nasionach.
Przemysl Spozywczy 12, 415

JOACHIMOGLU S. (1924) - Cité par Valette 1954

JUMELLE H. (1921) - Les huiles végétales - Paris

KITAMI T. (1960) - Biosynthesis of fatty acids by human sebaceous glands.
Acta Med. Biol. (Niigata) 7, 331

KOOYMAN D. (1932) - Lipids of the skin. Some changes in the lipids of epidermis during the process of keratinisation.
Arch. Derm. Syph. 25, 444

KVORNING S. (1950) - Investigations in to the pharmacology of skin fats and ointments. VI. The ability of the skin to absorb applied fats.
Acta. Pharmacol. toxicol. 6, 20

(1956) - VII. Effect of thickness and extent of ointment layer on absorption of salicylic acid.
Act. Pharmacol. Toxicol. 12, 222

LASSAR (1879) - Cité par Valette (1954)

LAUG E. et DRAIZE J. (1942) - The percutaneous absorption of amonium hydrogen sulfide and hydrogen sulfide.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 76, 179

LAUG E., VOS E. et KUNZE F. (1947) - Biologic assay of mercury ointments.
J. Amer. Pharm. Assoc. 36, 14

LAUG E., VOS E., UMBERGER E. et KUNZE F. (1947) - A method for the determination of cutaneous penetration of mercury.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 89, 42

LAUG E., VOS E., KUNZE F. et UMBERGER E. (1947) - A study of certain factors governing the penetration of mercury through the skin of the rat and the rabbit.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 89, 52

LAZAREW N., BRUSSILOWSKAJA A., LAWROW J., LIPSCHITZ J. (1931) Uber die Durchlassigkeit der Haut fur Benzin und Benzol.
Arch. f. Hyg. 106, 113

LAZAREW M. (1932) - Uber die perkutane Resorption von Schlafmitteln.
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 168, 162

LIEBREICH D. (1885) - Ueber das Lanolin, eine neue Salvengrundlage - Berl. Klin. Wschr. 47, 761

LINOSSIER G. et LANNOIS M. (1896) - De l'absorption des médicaments par la peau saine. Application à la médication salicylée.
Bull. gén. Thérap. 1, 238

LOTE G. (1935) - Cité par Cross (1955)

LUDUENA F., FELLOWS J. et DRIVER R. (1948) - Epidermal absorption of drugs.
Arch. Derm. Syph. 57, 210

MACHT D. (1937) - Absorption of tri-brom ethanol through skin.
Nature 140, 849

(1938) - The absorption of drugs and poison through the skin and mucous membranes.
Arch. Intern. Pharmacodyn. 58, 1

(1938) - The absorption of drugs and poisons through the skin and mucous membrane.
J. Am. Med. Assoc. 110, 409

MACHT D., JOHNSON S. et BOLLINGER H. (1916) - On the peripheral action of the opium alkaloide. Effect on the sensory nerve terminal.
J. Pharmacol. 8, 451

MALKINSON F. (1960) - Percutaneous absorption of toxic substances in industry.
Arch. Industr. Health. 21, 87

MANDELBAUM J. et SCHLESSINGER L. (1942) - Absorption of vitamin A through human skin.
Arch. Derm. Syph. 46, 431

MATSCHAK H. - (1936) Cité par Huerre 1961

MCKEE G., SULZBERGER M., HERRMANN F. et BAER R. (1945) Histologic studies on percutaneous penetration with special reference to the effect of vehicles
J. Invest. Dermatol. 6, 43

MENSIER P. (1957) - Dictionnaire des huiles végétales. Paris

MEYER F. et KERK L. (1958) - Vergleichende Untersuchung zur Durchlässigkeit der Haut füreinige aliphatische Trägersubstanzen.
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 235, 267

MEYER F., MEYER E. et KERK L. (1959) - Die Durchlässigkeit der Haut für ausgewählte aliphatische und alicyclische Trägersubstanzen.
Arzneim. Forsch. 9, 430

MEYER F. et MEYER E. (1959) - Percutane Resorption von ätherischen ölen und ihren Inhaltsstoffen.
Arzneim. Forsch. 9, 516

MEYER F. (1960) - Dosierbarkeit percutan zur resorption gebrachter Digitaloide.
Arzneim. Forsch. 10, 520

MEYERS D., NADKARNI M. et ZOPF L. (1949) - The absorption and penetration of therapeutics agents from a carbowax vehicle.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.) 38, 231

MIYAZAKI K (1931) - Cité par Valette (1954)

MONASH S. (1957) - Location of the superficial epithelial barrier to the skin penetration.
J. Invest. Dermatol. 29, 367

MONASH S. et BLANK H. (1958) - Location and reformation of the epitelial barrier to water vapor.
A.M.A. Arch. Dermatol. 78, 710

MONCORPS C. (1929) - Untersuchungen über die Pharmakologie und Pharmakodynamik von salben und salbeninkorporierten Medikamenten.
Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 141, 25

III Mitteilung : Untersuchungen über die Resorption und Pharmakodynamik-des-salbeninkorporierten elementaren Schwefels.
Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 141, 67

MONTAGNA W. (1954) - Penetration and local effect of vitamine A on the skin of guinea pig.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86, 668

MOORE C., LAMAR J. et BECK N.(1938) - Cutaneous absorption of sex hormones.
J. Am. Med. Assoc. 111, 11

MUNSON et SHEPS (1958) - Cité par Bost et Fargeas 1958

MUTIMER M., RIFFLIN C., HILL J. et CYR G. (1956) - Modern ointment base technology. Properties of hydrocarbon gels.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.) 45, 101

MUTIMER M., RIFFLIN C., HILL J., GLICKMAN M. et CYR G. (1956) Modern ointement base technology II Comparative evaluation of bases.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.) 45 212

NADKARNI M., MEYERS D., CARNEY R. et ZOPF L. (1951)
Clinical studies in percutaneous absorption.
Arch. Dermatol. Syph. 64; 294

NEESBAY T., PIRCIO A. et GRATTAN J. (1957) - The absorption of sulfur compounds from externally deposited polythionates by the skin of the rat.
J. Amer. Pharm. Assoc. 46, 263

NEUMANN J. (1871)
Ueber die Aufnahme des Inckesilbers darch die unverletz Haut.
Win. Med. Wschr. p.1209

NOGAMI H., HASEGAWA J. et HANANO M. (1956) - A new simplified determination method for percutaneous absorption of ointments.
Pharm. Bull. 4, 347

NYIRI W. et JANNITTI M. (1932) - About the fate of free iodine upon application to the unbroken animal skin and experimental study.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 45, 85

PAFFRATH N. (1934) - Zur frage der Resorption atherischer Ole durch die Haut.
Arch. f. Exp. Pathol. 174, 143

PARISOT L. (1863) - Sur le rôle de l'épiderme en présence de l'eau, de chloroforme de l'ether pur .
Compt. Rend. Ac . Sci. 57, 373

PREVROT A. et CABEZA F. (1962) - Note sur la composition de quelques corps gras peu communs par chromatographie en phase gazeuse.
Rev. Franç. Corps Gras 9, 149

PINKUSH (1951) - Examination of epidermis by strip method of removing horny layer observations on thickness of horny layer and on mitotic activity after stripping.
J. Invest. Dermatol. 16, 383

POLANO N., BONSEL J. et DEER MEER B. (1950) -

Relation between effect of topical irritants and ointment bases in wich they are applied to the skin
Dermatologica 101 - 69

POTELUNAS C., MEIXENER M. et HARDY J. (1949) - Measurement of pain threshold and superficial hyperalgesia in diseases of the skin.
J. Invest. Dermatol. 12, 307

POULET (1856) - Recherches expérimentales sur cette question "l'eau et les substances dissoutes sont-elles absorbées par la peau"?
Compt. Rend. Ac. Sci. 42, 435

REIN (1927) - Cité par Rothman 1954

ROQUES E., CAUJOLLE F. et REY J. (1938) - La perméabilité cutanée à l'hyposulfite de sodium, à l'hydrogène sulfuré et aux sulfures de sodium.
Bull. Acad. Med. Paris 119, 515

ROTHMAN S. (1954) - Physiology and biochemistry of the skin.
pages 26-59 Chicago

RUCKEBUSCH Y. et BOST J. (1962) - Application du test de la tige tournante à l'étude de la vitesse d'absorption de l'ésérine ; influence de l'excipient, huile de noyau interestérifiée.
Ann. Pharm. Franç. 20, 55

RUTKOWSKY A. (1960) - Les huiles de germe de blé et de seigle et les huiles de tomates et d'églantines, comme source des acides gras essentiels.
Nahrung 4, 115

SABETAY H. et S. (1941) - Les travaux récents d'analyse et de synthèse organique et la chimie des parfums. Paris.

SALLES L. (1841) - Des faits qui prouvent l'absorption cutanée.
Thèse Med. Paris, 13, 148

SEGUIN A. (1814) - Sur les vaisseaux absorbants, sur les vaisseaux exhalants et sur les maladies qui proviennent, ou d'un dérangement quelconque dans ces vaisseaux ou des altérations que peuvent éprouver nos humeurs ou enfin de la réunion de ces deux causes.
Ann. Chim. 90, 185

SCHAMBERG J., KOLMER J., RAIZISS G., GAVRON J. (1918) - Experimental studies of the mode of absorption of mercury when applied by innunction.
J. Am. Med. Assoc. 70, 142

SCHWOB R. (1951) - L'huile d'avocat.
La Parfumerie moderne n°23 p.57

SCOTT A., KALZ F. (1956) - The penetration and distribution of 14 C hydrocortisone in human skin after its topical application.
J. Invest. Dermatol. 26, 149

SCOTT B. (1940) - Androgenic effects from percutaneous administration in castrate rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 43, 216

SCOUTTETEN H. (1866) - De l'absorption cutanée des causes qui l'entravent ou la favorisent.
Compt. Rend. Ac . Sci. 62, 1317

SHELLEY W. et MELTON F. (1947) - Studies on absorption through normal skin.
Federation Proc. 6, 199

(1949) - Factors accelerating penetration of histamine through normal intact human skin.
J. Invest. Dermatol. 13, 61

SHELMIRE J. (1960) - Factors determining the skin-drug vehicle relationship.
A.M.A. Arch. Dermatol. 82, 78

SIDI E., REINBERG A., HINCKY M. et BOURGEOIS-SPINASSE J. (1958) Acido-cétose grave survenant dans deux cas d'erytrodermie psoriasique traités par application cutanée d'acide salicylique inclus dans un gorps gras pénétrant.
Presse Méd. 1958, 66, 735

SKAUEN D., CYR G., CHRISTIAN J. et LEE C. (1949) - A study of the absorption of radioactivity sodium iodide from a variety of ointment base.
J. Am. Pharm. Assoc. 38, 618

SOBEL H. (1949) - Squalene in sebum and sebum like materials.
J. Invest. Dermatol. 13, 333

STOLAR M., ROSSI V., BARR M. (1960) - The effect of various ointment bases on the percutaneous absorption of salicylates.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.) 49, 144

STOUGHTON R., CLENDENNING W., KRÜSE D. (1960) - Percutaneous absorption of nicotinic acid and derivates.
J. Invest. Dermatol. 35, 357

STRAKOSCH E. (1943) - Studies on ointments
J. Pharmacol. Exp. Therap. 78, 65

STRAKOSCH E., et CLARK W. (1943) - Studies of penetration of sulfonamides into the skin. I Penetration of sulfonamides from various ointment bases into the intact skin of guinea pigs ; and a new method of analysis of tissue sulfonamides.
Am. J. Med. Sci. 205, 518

II Sulfathiazole, sulfadiazine and sodium sulfacetamide.
Am. J. Med. Sci. 206, 610

SUTTON R. (1908) - The absorption of ointments
Brit. Med. J. 1, 1225

SZAKALL A. (1952) - Uber den Stand der hautphysiologischen Forschungals Beitrag zu einem zielbewussten Arbeitsschutz.
Arch. Dermat. u Syph. 194, 376

(1955) - Uber die Eigenschoften Herkunft und physiologischen Funktionen der die H. Ionenkonzentration bestimmenden Wirkstoffe in der verhorntern Epidermis.
Arch. Klin u Exper. Derm. 201, 331

SZCZESNIAK A., SHERMAN H. et HARRIS R. (1951) - The percutaneous absorption of water.
Science 113, 293

UENO S. et TAKASE S. (1937) - cités par Sabetay

UNNA E. et FREY W. (1929) - Cités par Valette 1954

VALDIGUIE P. et MESTRE A. (1944) - Sur une cause d'erreur dans la recherche de l'acétonurie pathologique.
Ann. Biol. Clin. page 11

VALETTE G. (1945) Sur la pénétration transcutanée des huiles essentielles.
Compt. Rend. Soc. Biol. (Paris) 139, 904

VALETTE G. (1954) - Les conditions physico-chimiques de l'absorption cutanée.
J. Physiol. (Paris) - 1954, 46, 51-98

VALETTE G. et CAVIER R. (1946) - Sur l'activité de la dihydrofolliculine par voie transcutanée chez le Rat.
Compt. Rend. Soc. Biol. (Paris) 140, 255

VALETTE G. et CAVIER R. (1946) - Sur l'activité de la testostérone par voie transcutanée chez le Rat.
Compt. Rend. Soc. Biol.(Paris) 140, 825

VALETTE G. et CAVIER R. (1948) - Absorption cutanée des hormones liposolubles.
Rev. gén. des Sci. 55, 263

VALETTE G. et CAVIER R. (1951) - Sur un test physiologique applicable à l'étude d'un médicament.
J. Physiol. (Paris) 43, 41

VALETTE G. et CAVIER R. (1954) - Absorption percutanée et constitution chimique. Cas des hydrocarbures, des alcools et des esters.
Arch. Int. Pharmacod. 97, 232

VALETTE G. , CAVIER R. et SAVEL J. (1954) - Les facteurs physiques de l'absorption cutanée des liquides organiques : hydrocarbures, alcools et esters.
Arch. Int. Pharmacod. 97, 241

VALETTE G. et CESAR R. (1948) - L'absorption cutanée du salicylate de sodium.
Ann. Pharm. franç. 6, 16

VALETTE G. et ETCHEVERRY J. (1957) - Etude comparée de l'effet de differents analgésiques par voie percutanée chez la Souris.
Ann. Pharm. Franç. 15, 683

VALETTE G. et HUERRE M. (1957) - Etude de différentes méthodes pharmacodynamiques applicables à l'évaluation de l'absorption cutanée des excipients pour pommades.
Ann. Pharm. Franç. 15, 601

VALETTE G., HUERRE M. et ZIZINE L. (1958) - Importance de la nature du véhicule sur l'activité des pommades à base de corticostéroïdes.
Ann. Pharm. Franç. 16, 397

VALETTE G. et SPIRIG H. (1949) - La pénétration cutanée de l'insuline.
Ann. Pharm. Franç. 7, 157

Van LAERE R. et DUBOIS L. (1953) - L'avocatier.
Publication de la Direction de l'Agriculture. Bruxelles, Belgique.

VERVELDE K. (1954) - Le Caroubier et l'huile de germe de caroube en cosmetologie.
Ind. de la Parfumerie, 9, 41

VIEUX A. (1959) - De l'extraction de l'huile de germe de maïs par les solvants organiques usuels notamment par l'éthanol et le traitement au moyen de ce solvant par le procédé liquide-liquide d'une huile brute.

VINSON L. et CHOMAS B. (1960) - Percutaneous absorption and surface active agents.
J. Soc. Cosm. Chemist. 11, 127

VOLLMER H., ABLER Ch. et ALTMAN H. (1942)
ercutaneous administration of vitamine K.
Am. J. Disease Children 64, 462

WALZER A. (1940) - Cutaneous absorption.A direct technic for demonstrating the percutaneous absorption of antigens.
Arch. Dermat. Syph. 41, 1940

WELANDER - Cité par Valette 1954

WEPIERRE J. et VALETTE C. (1962) - La traversée de la barrière lipidique cutanée chez le Chien par un solvant lipophile, le p-cymène marqué au carbone 14.
Compt. Rend. Acad. Sci. 254, 2092

WILE U. et ELLIOT A. (1917) - Mode of absorption of mercury in the inunction treatment of syphilis.
J.Am. Med. Assoc. 68, 1024

WHEATLY V. (1953) - The estimation of squalene in sebum and sebum-like materials.
Biochem. J. 55, 637

WINDHORST D. et FOSTER R. (1957) - Studies on cholesterol and cholesterol esters in skin surface fats.
J. Invest. Dermat. 29, 339

WINTERNITZ R. (1891) - Zur lehre von der Hautresorption.
Arch. Exp. Path. Pharmak. 28, 405

WINTON A. et WINTON K. (1946) - The structure and composition of foods - London

WOLFF J. (1953) - Méthodes d'analyse et de contrôle industriel des matières grasses. Paris

WURSTER D. et DEMPSKI R. (1960) - Adsorption of lipid soluble substances by human keratin.
J. Am. Pharm. Assoc. (Sci.Ed.) 49, 305

WURSTER D. et DEMPSKI R. (1961) - Permeability of excised human keratin to lipid-soluble substances.
J. Pharm. Sci. 50, 588

WURSTER D. et KRAMER Sh. (1961) - Investigation of some factors influencing percutaneous absorption.
J. Pharm. Sci. 50, 288

ZONDEK B. (1929) - Folliculin.
Klin. Woch. 8 2229

(1938) - Cutaneous applications of follicular hormone.
The Lancet 1, 1107

-:-